

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1935-1936. — N° 43

**TRAITEMENT
DES
ANÉMIES EXPÉRIMENTALES AIGUËS
PAR SAIGNÉE CHEZ LE CHIEN
A L'AIDE DE
SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE DE CHEVAL**

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 13 décembre 1935

PAR

François-Élie-Léon SAPPEY

Élève du Service de Santé de la Marine

Ancien Externe des Hôpitaux

Diplômé de Médecine coloniale de l'Université de Bordeaux

Né à MONTPELLIER (Hérault), le 16 octobre 1908

Examineurs de la Thèse	{	MM. AUBERTIN, professeur.....	Président
		DELAUNAY, professeur.....	Juges.
		DAMADE, agrégé.....	
		DE GRAILLY, agrégé.....	

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS

5, Place Saint-Christoly

1935

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1935-1936. — N° 43

TRAITEMENT
DES
ANÉMIES EXPÉRIMENTALES AIGÜES
PAR SAIGNÉE CHEZ LE CHIEN
A L'AIDE DE
SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE DE CHEVAL

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 13 décembre 1935

PAR

François-Élie-Léon SAPPEY

Élève du Service de Santé de la Marine

Ancien Externe des Hôpitaux

Diplômé de Médecine coloniale de l'Université de Bordeaux

Né à MONTPELLIER (Hérault), le 16 octobre 1908

Examineurs de la Thèse	{	MM. AUBERTIN, professeur.....	{	Président
		DELAUNAY, professeur....		Juges.
		DAMADE, agrégé		
		DE GRAILLY, agrégé.....		

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC.

ASSESSEUR : M. LABAT.

DOYEN HONORAIRE : M. C. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. POUSSON, MOURE, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, BEILLE,
CASSAËT, CHAVANNAZ, PACHON

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale.....	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie.....	MANDOUL.
id.....	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale.....	AUBERTIN.
Clinique chirurgicale.....	BÉGOUIN.	Clinique ophtalmologique.....	TEULIÈRES.
Clinique chirurgicale et gynécologique.....	GUYOT.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie..	ROCHER.
Pathologie et thérapeutique générales....	CARLES.	Clinique méd. des maladies des enfants..	CRUCHET.
Clinique d'accouchements.....	ANDÉRODIAS.	Chimie biologique et médicale.....	DELAUNAY.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.	SABRAZÈS.	Physique médicale et pharmaceutique....	C. SIGALAS.
Anatomie.....	VILLEMIN.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.	BONNIN.
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène.....	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie.....	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
Chimie.....	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	LABAT.
Botanique et matière médicale.....	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie..	GREYX.
Pharmacie.....	DUPOUY.	Clinique dentaire.....	N.

MM. LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). PAPIN (Chirurgie générale).
R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	DUBECQ.	Chirurgie générale.....	CHARRIER.
id.....	DUFOUR.	id.....	LOUBAT.
Physiologie.....	FABRE.	Obstétrique.....	RIVIÈRE.
Médecine générale.....	DAMADE.	Ophtalmologie.....	BEAUVIEUX.
id.....	PIÉCHAUD.	Oto-rhino-laryngologie.....	DESPONS.
id.....	DELMAS-MARSALET.	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
id.....	DE GRAILLY.	Physique médicale.....	WANGERMEZ.
	FONTAN.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.	VITTE.

COURS COMPLÉMENTAIRES

	MM.		MM.
Physiologie.....	FABRE.	Zoologie et parasitologie.....	R. SIGALAS.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Physique médicale et pharmaceutique....	WANGERMEZ.
Accouchements.....	RIVIÈRE.	Botanique.....	GIRARD.
Pathologie médicale.....	DELMAS-MARSALET.	Médecine légale.....	DERVILLÉE.
Puériculture.....	FAUGÈRE.	Bactériologie.....	MOUREAU.
Pharmacie chimique.....	VITTE.		

Ophtalmologie..... MM. CABANNES (en congé).
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. N.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MA FEMME

A MA PETITE FRANÇOISE

A MON PETIT PHILIPPE

A MES AMIS

A MES CAMARADES DE LA MARINE ET DES COLONIES

A MES MAITRES DE LA MARINE

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

A MES JUGES

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL CAZAMIAN

*Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine et ds Troupes coloniales,
Officier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF BRUN

*Sous-Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine et ds Troupes coloniales,
Officier de la Légion d'honneur,
Décoré de la Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. ANDERODIAS

*Professeur de Clinique d'accouchements,
Accoucheur des Hôpitaux,
Officier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. DELAUNAY

*Professeur de Chimie biologique,
Membre correspondant de la Société de Biologie,
Docteur ès Sciences,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LACOSTE

*Docteur ès Sciences,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ WANGERMEZ

Radiologiste des Hôpitaux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR MOUREAU

*Chargé de cours de bactériologie à la Faculté de Médecine de Bordeaux,
Chef de laboratoire des Hôpitaux,
Croix de guerre.*

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR E. AUBERTIN

*Professeur de Médecine expérimentale.
Médecin des Hôpitaux,
Officier d'Académie.*

AVANT-PROPOS

Il nous est particulièrement agréable, au début de ce travail, d'exprimer nos sentiments de très vive reconnaissance à M. le Professeur E. Aubertin. Non seulement il a eu la bonté de nous ouvrir l'accès de son laboratoire et de mettre généreusement à notre disposition les animaux et le matériel d'expérimentation dont nous pouvions avoir besoin, mais encore, et surtout, il nous a donné largement et sans mesure l'appui particulièrement précieux de sa haute autorité, de son expérience et de ses conseils, nous guidant dans l'orientation plus précise de nos recherches et s'intéressant à elles avec une bienveillance dont nous avons été très particulièrement touché. Nous voulons l'assurer aujourd'hui de la fierté et de la joie que nous avons éprouvées à travailler auprès de lui, et, lui faisant hommage de cette thèse, nous lui exprimons nos remerciements émus et notre grande et respectueuse reconnaissance.

Nous tenons également à assurer de notre reconnaissance MM. les Professeurs Delaunay et Lacoste, M. le Professeur agrégé Wangermez et M. le Docteur Moureau, qui nous ont toujours accueilli avec une grande bienveillance, nous ont donné l'appui de leurs conseils et ont eu la bonté de réaliser pour nous la partie scientifique de ce travail.

Nos remerciements vont enfin à M. Castagnou, interne en pharmacie, à nos camarades et aux laborantines du Laboratoire de médecine expérimentale et du Laboratoire des services hospitaliers de l'Hôpital des enfants, qui, en maintes circonstances, nous ont rendu des services pour lesquels nous les assurons de notre profonde gratitude.

TRAITEMENT
DES
ANÉMIES EXPÉRIMENTALES AIGÜES
PAR SAIGNÉE CHEZ LE CHIEN
A L'AIDE DE
SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE DE CHEVAL

INTRODUCTION

Au cours de l'année 1934, notre ami, le Docteur Jullien-Vieroz, mit au point, dans une étude remarquable, la technique de la transfusion du sang conservé chez l'homme, qu'il fut l'un des tout premiers à réaliser d'une façon méthodique et avec plein succès.

Durant de longues conversations suscitées par l'intérêt de ces expériences, nous avons pensé que l'élément le plus important des transfusions était peut être constitué, en dehors de la masse sanguine, par l'oxyhémoglobine.

Si cette idée était exacte, pourquoi n'essaierait-on pas de remplacer les transfusions de sang complet par des injections de sérums minéraux additionnés d'oxyhémoglobine ?

Cette idée est, nous le verrons, dans le chapitre réservé à l'historique, déjà ancienne, et, si nous croyons être l'un des premiers à l'avoir réalisée, d'autres l'ont depuis longtemps, formulée. Afin de donner à cette hypothèse une confirmation expérimentale, nous avons entrepris ce travail sous la direc-

tion de M. le Professeur Aubertin, de Bordeaux. Nous avons pratiqué une série d'expériences tendant à démontrer que des anémies expérimentales aiguës par saignée peuvent être traitées efficacement, et sans accident, par des injections intra-veineuses de solution d'oxyhémoglobine.

Mais si l'injection de solutions d'oxyhémoglobine spécifique nous parut logique, il nous sembla beaucoup plus intéressant de nous servir, dans l'essai du traitement de ces anémies expérimentales aiguës par saignée, de solution d'oxyhémoglobine hétérogène. Le but principal de tout travail d'expérimentation sur l'animal doit être l'application possible à la clinique humaine. Le résultat de notre travail serait donc incomplet s'il montrait seulement la possibilité de remplacer, dans les cas d'anémies aiguës, une transfusion de sang par l'injection d'une solution d'oxyhémoglobine spécifique.

Si cette possibilité était démontrée, le problème des transfusions transposé dans le domaine de la clinique humaine n'en serait que partiellement simplifié.

Ces solutions d'oxyhémoglobine humaine pourraient, peut-être, être conservées plus longtemps et commercialisées davantage que le sang complet. Mais la recherche des donateurs et le prix d'achat du sang resteraient identiques.

Ces différentes raisons nous ont décidé à utiliser des solutions d'oxyhémoglobine hétérogène.

Si des anémies expérimentales aiguës par saignée pouvaient ainsi être traitées efficacement et sans accident chez des animaux, nous étions en droit de penser qu'une application ultérieure à l'homme permettrait d'étendre d'une manière très importante la thérapeutique par transfusions.

Ces solutions d'oxyhémoglobine hétérogène, obtenues à l'aide de sang frais d'animal, pourraient, peut-être, si la préparation en était facile et la conservation assurée, devenir des produits commerciaux semblables aux ampoules de sérum physiologique.

Nous parlerons plus loin des bénéfices que pourrait en retirer la médecine d'urgence, principalement à la campagne et aux colonies.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

De nombreux auteurs se sont intéressés à la question des injections de solutions d'hémoglobine. Les uns ont étudié le pouvoir antigène de ce pigment; d'autres ont tenté de déterminer son seuil rénal d'excrétion. Ces diverses études seront rapportées au fur et à mesure des expériences relatées dans notre travail.

Un très petit nombre d'auteurs seulement ont recherché le pouvoir d'oxygénation de l'hémoglobine dans l'organisme. Seuls, leurs travaux seront rapportés dans ce chapitre.

Paul Bert, en 1868, pense, le premier, semble-t-il, qu'une solution d'oxyhémoglobine « pourrait, au point de vue du rappel à la vie, jouer le même rôle que le sang lui-même ».

L'auteur rapporte, dans ses *Leçons sur la physiologie comparée de la respiration*, professées au Muséum d'histoire naturelle, le détail de ses expériences réalisées sur le chien.

Il indique ainsi la façon dont la solution d'oxyhémoglobine a été préparée : « J'ai fait congeler une quantité de sang de chien supérieure à celle qu'il serait nécessaire d'injecter pour le rappel à la vie d'un animal de cette espèce au préalable rendu exsangüe; par congélation, les globules rouges ont été détruits, et le sang, lentement dégelé, n'a été bientôt qu'une sorte de bouillie de cristaux d'hémato-cristalline. A la température de l'appartement, ces cristaux se sont redissous; j'ai laissé déposer, j'ai décanté, puis filtré, et cela à plu-

sieurs reprises, le liquide obtenu, et j'ai eu alors cette belle solution couleur de laque que donne l'hémato-cristalline. Le microscope n'y montrait que de rares globules et un petit nombre de débris. Agitée au contact de l'air, réchauffée à 40 degrés, cette liqueur a pris une belle teinte rouge en absorbant de l'oxygène. »

Puis il donne un court récit de son expérimentation : « Un chien fut alors saigné, et comme il était près de la fin, j'injectai lentement dans la jugulaire ma solution d'oxyhémoglobine. Il y eut pendant quelques minutes une apparence d'amélioration; puis, très rapidement, les phénomènes reprirent leur cours et la mort survint, plus vite même, ce semble, que si aucune injection n'avait été faite. »

Paul Bert reprend une seconde fois son expérience. Le résultat en est, à nouveau, négatif. Il abandonne ses recherches.

Oré, de Bordeaux, en 1868, dans un livre consacré aux *Etudes historiques et physiologiques de la transfusion du sang*, rapporte une série d'expériences personnelles relatives à ce sujet.

Après avoir conclu que « la transfusion peut ramener à la vie un animal rendu exsangue par une forte hémorragie », l'auteur se demande la part que prennent le sérum ou les globules dans « ces phénomènes de véritable résurrection ».

Il essaie en vain de ramener à la vie par des injections de leur sérum des animaux rendus exsangues par hémorragie. Devant cet échec, l'auteur s'autorise à penser « que, puisque la transfusion peut lutter avec avantage contre les effets funestes de l'hémorragie, c'est aux globules que le sang doit surtout ses propriétés revivifiantes ».

Ayant enlevé à deux chiens une quantité de sang veineux assez grande pour les affaiblir considérablement, Oré fait tomber doucement un filet d'eau sur le caillot. Il obtient par ce lavage un liquide fortement rougi, où le microscope lui permet de « constater la présence de globules sanguins dans

un état de parfaite intégrité, mais distendus par l'eau qui avait traversé leurs parois ».

Dans trois expériences sur six, l'auteur obtient des effets avantageux « par la transfusion de globules seuls, tenus en suspension dans l'eau ».

Nous rapportons ici ces expériences, car il est vraisemblable qu'il s'agissait surtout d'eau hémoglobinée.

Oré conclut, néanmoins, « que si les globules sont la partie réellement active du sang, il serait quelquefois dangereux de trop compter sur eux ».

Sellards et Minot, en 1916, après avoir réalisé de nombreuses fois, et sans accident, des injections intraveineuses d'hémoglobine chez l'animal, estiment qu'« il semble sans danger d'essayer sur l'homme ».

« Dans tous les cas, seul du sang humain a été employé. Il a été défibriné, centrifugé longuement pour faire tomber les globules rouges en laissant en suspension une grande partie des plaquettes. On aspire à la pipette le sérum et la « crème leucocytaire ». Les globules rouges sont lavés une fois encore avec la solution saline, centrifugés pendant quinze minutes à 2.200 tours par minute, pour tasser les globules le plus possible, puisque le volume du sédiment corpusculaire était employé comme mesure de la quantité d'hémoglobine injectée. Ce sédiment globulaire est centrifugé jusqu'à ce qu'il soit de couleur uniforme. On aspire le liquide qui surnage, on enlève aussi la couche supérieure des globules rouges. Le sédiment globulaire est dissous dans 4 volumes d'eau distillée, chauffé à 37 C. et laissé quinze minutes à cette température. Cette solution aqueuse est rendue isotonique par addition d'une solution fortement saline. La solution d'hémoglobine claire, rouge sombre, devient très opaque à l'addition de la solution saline. Ce mélange trouble est centrifugé jusqu'à obtenir un liquide clair qui surnage. En rendant la solution isotonique, ajouter un léger excès de chlorure de sodium, un vingtième de volume total de chlorure de sodium à 48 p. 100.

» En pratique, on emploie les préparations suivantes :

100 cm³ de sédiments globulaires;

400 cm³ d'eau distillée;

25 cm³ de solution de chlorure de sodium à 18 p. 100.

» La solution d'hémoglobine est toujours injectée dans les vingt-quatre heures. »

Sellards et Minot injectent ainsi à l'homme par voie intra-veineuse des doses d'hémoglobine allant de 1 à 33 cm³ de globules rouges.

D'après ces auteurs, l'hémoglobinurie a été provoquée dans 13 cas sans symptômes subjectifs. Pour un seul cas, à la suite de l'injection d'une grande quantité d'hémoglobine (33 cm³), le sujet « a présenté, une heure après l'injection, un léger frisson de dix minutes et toute la nuit une impression de froid et de chaud, avec rougeur de la face ». Sellards et Minot concluent que, « par comparaison avec les sujets sains, il faut nettement moins d'hémoglobine pour provoquer l'hémoglobinurie chez les malades avec une destruction augmentée du sang, en particulier l'anémie pernicieuse. Dans l'anémie secondaire à une hémorragie ou dans le cas où il n'y aurait pas de signe d'une destruction excessive du sang, on n'a généralement pas observé d'hémoglobinurie après l'injection de quantités qui auraient provoqué une forte hémoglobinurie dans des cas d'anémie pernicieuse active. »

Couvreur et Clément, en 1919, reprennent, sur le lapin, les expériences de Paul Bert.

« On centrifuge du sang de lapin. On laque les globules. On ajoute le produit à du sérum physiologique. L'injection est poussée très lentement et avec toutes les précautions pour éviter la pénétration d'air; l'animal, préalablement saigné de 40 cm³, meurt au milieu de convulsions, en poussant un grand cri, trois heures après l'injection de cette solution d'oxyhémoglobine. »

Cette expérience, plusieurs fois répétée, aboutit toujours à un résultat identique, même en se servant d'hémoglobine retirée à l'animal lui-même.

Pour ces auteurs, ces accidents ne paraissent pas dus à des phénomènes sériques, mais plutôt à l'hémoglobine introduite dans le système circulatoire. « Pour élucider la question, on injecte, à un lapin ayant subi une saignée carotidienne de 45 cm³, 45 cm³ de sérum artificiel renfermant 70 centigrammes d'hémoglobine de commerce. L'animal meurt en trois quarts d'heure environ. »

Pour Couvreur et Clément, « la conclusion qui s'impose est que : à doses relativement minimales, l'hémoglobine est toxique ».

Taylor, Manwell, Robscheit-Robbins et Wipple, en 1930, injectent, par voie intraveineuse, de l'hémoglobine de mouton et d'oie à des chiens anémiés et constatent que ces animaux sont capables de conserver, pour la construction d'hémoglobine neuve, environ toute l'hémoglobine injectée.

Ils notent également que, si l'on administre à un chien par voie intraveineuse de l'hémoglobine de chien, l'apparition d'hémoglobine neuve est un peu plus rapidement observée que dans le cas d'injection d'hémoglobine étrangère.

Au cours de leurs expériences, ces auteurs injectent l'hémoglobine étrangère à la dose de 2 grammes par jour. Cette injection quotidienne étant inférieure à la valeur du seuil rénal, l'hémoglobine ne filtre pas à travers les reins.

H. Delaunay, en 1930, étudie, dans une publication intitulée *A la recherche d'un liquide physiologique pour le traitement des hémorragies graves*, les divers sérums préconisés à cet effet. L'auteur rapporte, en outre, les effets de l'addition de gomme arabique au liquide de Locke, addition réalisée par lui en 1917. L'emploi du Locke-gommé permet de « remédier à la fuite des solutions minérales dans les espaces lacunaires; il assure la réplétion du système vasculaire, rétablit la masse

sanguine en circulation et relève la pression artérielle, mais la survie définitive n'est pas obtenue lorsque l'hémorragie atteint 60 à 70 p. 100 de la masse sanguine totale, par suite vraisemblablement du manque de globules ».

A la suite des travaux de Yourevitch et Teleguina, H. Delaunay et Orly transfusent, à des chiens saignés de 70 p. 100 de leur masse sanguine totale, des hématies de bovidés, isolées par centrifugation, bien lavées et mises en suspension dans un sérum artificiel salé et glucosé.

Grâce à cette transfusion, deux chiens sur quatre ont survécu et se sont rapidement rétablis.

Ces auteurs notent la précocité de l'hémoglobinurie. « Assez légère au début, elle devient intense de dix à vingt heures après la transfusion, puis décroît progressivement vers la quarantième heure. » La destruction assez rapide des hématies transfusées, dont l'hémoglobinurie est le témoin, permet à Delaunay de se demander « s'il ne serait pas possible d'améliorer les sérums minéraux par addition d'hémoglobine à dose convenable ».

Fontès et Thivolle, en 1934, estiment, au cours d'un article paru dans *Le Sang*, qu'à la suite d'une transfusion les globules rouges du donneur sont détruits en trois ou quatre jours dans l'organisme du receveur.

Pour ces auteurs, dans une transfusion, les hématies du donneur étant détruites, l'hémoglobine mise en liberté suivrait deux voies :

- Fixation des autres hématies restant dans la circulation;
- Constitution possible d'une réserve musculaire.

Jullien-Viéroz, en 1934, au cours de son travail sur la *Transfusion du sang conservé chez l'homme*, souligne le rôle primordial de l'hémoglobine. « Il doit être possible, écrit-il, d'injecter par voie intraveineuse un mélange composé de sérum et d'hémoglobine autogène. Et qui empêcherait, si la

formule de l'hémoglobine animale est identique ou peu différente de celle de l'hémoglobine humaine, d'injecter cette hémoglobine animale ?... »

« En effet, ajoute-t-il, dans un bon nombre de cas où l'indication de la transfusion est posée, ce qu'il importe de donner au malade, c'est un agent capable de véhiculer l'oxygène, d'exciter les organes hématopoïétiques, afin de pouvoir reconstituer ce que l'organisme a perdu. »

Amberson et Hober, en 1932, emploient une solution de Ringer hémoglobinée pour la perfusion des glandes salivaires isolées.

Sous son influence, ces auteurs « évitent l'œdème que l'on ne manque pas d'obtenir dans la perfusion effectuée avec la solution de Ringer-Locke pure et retardent l'apparition de la vaso-constriction, qui est toujours produite immédiatement par le sang défibriné ou le sérum sanguin ». Ces préparations glandulaires demeurent sensibles pendant plusieurs heures à la stimulation nerveuse.

Amberson et Höber peuvent constater ainsi que « l'hémoglobine en solution peut remplir le double rôle de maintenir la pression osmotique colloïdale d'un liquide de perfusion et de transporter l'oxygène en quantité équivalente à celles que l'on trouve dans le sang normal des mammifères ».

Amberson, Flexner, Sttegerda et Pankratz, en 1934, pensent, encouragés par ces résultats favorables, que la solution de Ringer contenant de l'hémoglobine est capable de remplacer le sang dans tout l'organisme des mammifères.

Ces auteurs soulignent que, dans tous les travaux antérieurs aux leurs, il n'a été injecté que de petites quantités d'hémoglobine, généralement dans le but de déterminer le seuil rénal. « Jamais, disent-ils, il n'a été essayé de remplacer complètement le sang normal par une solution contenant de l'hémoglobine. »

Amberson et ses collaborateurs réalisent sur le chat, le

chien ou le lapin, une série d'expériences dont voici le protocole opératoire : une canule est introduite dans la carotide et une autre l'est dans la jugulaire. Le sang s'écoule par la canule carotidienne. En même temps et à la même allure, la solution de Ringer hémoglobinée est injectée par la canule jugulaire. A la fin de l'opération, dans la plupart des expériences, la même quantité de liquide est entrée et sortie.

Ces auteurs usent, dans leurs premières expériences, de solutions contenant environ 5 p. 100 d'hémoglobine. Leur pression colloïdale osmotique, d'environ 13 millimètres de mercure, représente donc 60 p. 100 de celle des protéines du sérum normal. La durée de la vie est courte : six à sept heures au plus.

Amberson observe que la vie est prolongée plus longtemps à chaque augmentation de la teneur en hémoglobine des solutions. Avec les plus fortes concentrations (14 p. 100), les animaux survivent de vingt-quatre à trente-six heures. Leur comportement est essentiellement normal pendant plusieurs heures.

« Les animaux succombent finalement parce que l'hémoglobine en solution passe lentement dans les vaisseaux lymphatiques et dans l'urine, est absorbée par les cellules du système réticulo-endothélial et subit une transformation en méthémoglobine qui ne peut assurer le transport de l'oxygène. La disparition de l'hémoglobine ne peut être empêchée par l'ablation des reins. La mort survient quand la concentration en oxyhémoglobine du fluide circulant est tombée à un taux de 3 p. 100 environ. Un état d'acidose se développe avant la mort. »

A la température de 38° C, le pH de la solution, fraîchement préparée, de Ringer hémoglobinée à 14 p. 100, est 7,3-7,4. Sa pression colloïdale osmotique est de 53 à 60 millimètres de mercure, plus du double par conséquent de la pression colloïdale osmotique du sang.

Amberson et ses collaborateurs n'ont pu encore déterminer avec certitude l'horaire de l'émission rénale de l'hémoglo-

binc. Ils notent cependant l'existence d'une élimination relativement minime dans l'urine quand l'hémoglobine est initialement à un taux élevé. Dans ce cas, apparaît souvent une anurie. Avec une concentration initiale basse, l'hémoglobine se montre en plus grande quantité dans l'urine; « certains animaux donnent même l'apparence d'une diurèse d'hémoglobine ». A l'autopsie, tous les organes sont normaux, sauf le rein, très gonflé, rouge sombre, presque noir. Le liquide exprimé des coupes de cet organe montre à l'examen spectroscopique une forte concentration en méthémoglobine. Les préparations microscopiques, teintées pour déceler la présence du fer, révèlent des concentrations granulaires d'hémoglobine dans les capillaires glumérulaires et tubulaires.

Dans les ganglions lymphatiques, le foie, la rate, la moelle osseuse, Amberson découvre une phagocytose de l'hémoglobine ou de ses dérivés par le système réticulo-endothélial.

Mulder, Amberson, Sttegerda et Flexner, en 1934, rapportent, à la suite des travaux précédents, une série d'expériences prouvant que la solution de Ringer hémoglobinée est apte à fournir à une préparation cœur-poumons, la même quantité d'oxygène que celle apportée par le sang défibriné du chien.

Webster, Angel, Laug et Amberson, en 1934, constatent que, pour le rein de grenouille, l'élimination de l'hémoglobine est très influencée par le pH du liquide de perfusion dans lequel elle est dissoute.

Cette élimination est plus grande dans le côté acide et plus petite dans le côté alcalin de la marge étudiée (pH 5,5 à pH 7,8). En maintenant une alcalose, la perte de l'hémoglobine dissoute hors des vaisseaux sanguins des animaux expérimentés peut être considérablement retardée.

CHAPITRE II

RECHERCHES SUR L'HEMOGLOBINE EN POUDRE

Au début de ce travail tendant à essayer de démontrer que, dans le traitement des anémies expérimentales aiguës par saignée, les transfusions de sang complet pourraient peut-être être remplacées par des injections intraveineuses de solution d'oxyhémoglobine, deux procédés s'offraient à nous pour la préparation de ces solutions :

- Procédé à base de poudres commerciales d'oxyhémoglobine;
- Procédé à base de sang frais d'animal.

Nous avons d'abord opté pour le premier mode de préparation. Nous verrons plus loin quelles circonstances nous ont obligé à l'abandonner.

Si l'hypothèse des transfusions de solutions d'oxyhémoglobine recevait une confirmation expérimentale, l'emploi des poudres commerciales nous paraissait présenter de sérieux avantages.

Ces poudres, vraisemblablement moins fragiles que des solutions, pourraient se conserver plus longtemps sans risque d'altération. Vendues en ampoules stériles, elles permettraient aux praticiens de réaliser, au moment d'en faire usage, des solutions extemporanées dans le dissolvant de leur choix : sérum physiologique, sérum glucosé-salé, sérum de Normet ou solution de Ringer-Locke.

Sous le nom de « poudres d'oxyhémoglobine vraie sèche », ces poudres nous ont été très aimablement fournies par une

grande maison commerciale. Elles sont extraites du sang de cheval par un procédé qui nous est inconnu.

Nos recherches sur l'hémoglobine en poudre ont duré plus de deux mois. Le but que nous nous proposons avec leur emploi n'ayant pas été atteint, nous ne ferons que mentionner les raisons qui nous ont obligé à les abandonner :

1° Même à des concentrations très faibles (2 à 4 g. p. 100), la dissolution de la poudre d'hémoglobine dans de l'eau distillée ou du sérum physiologique est extrêmement difficile;

2° L'examen spectroscopique révèle que la solution obtenue (de couleur franchement brune), renferme, outre de l'oxyhémoglobine, une notable proportion de méthémoglobine;

3° Ces poudres d'hémoglobine ne sont pas pures. Elles contiennent environ 4 à 5 p. 100 de protéines du sang;

4° La stérilisation de ces solutions est impossible à obtenir:

- par filtration à la bougie -- l'oxyhémoglobine étant une molécule chimique très grosse;
- par la chaleur (stérilisation et tyndallisation), l'oxyhémoglobine étant complètement dénaturée par ces processus;
- par les antiseptiques qui méthémoglobinisent les solutions;
- par exposition aux rayons ultra-violets.

Ce dernier essai de stérilisation sera seul exposé avec détail en raison des constatations auxquelles nous lui devons d'avoir abouti.

Action des rayons ultra-violets sur les solutions de poudre d'oxyhémoglobine.

Alors que nous avions échoué dans tous nos essais de stérilisation, un de nos camarades du Laboratoire nous proposa d'exposer nos solutions aux rayons ultra-violets, dans le but de les stériliser.

Le 14 janvier 1933, nous préparons une solution de poudre d'hémoglobine dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000. Un examen spectroscopique y décèle la présence d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine.

Le même jour, nous soumettons, pendant dix minutes, une partie de la solution à l'action des rayons ultra-violets. La source lumineuse est à 50 centimètres. Des ensemencements faits sur bouillon et gélose permettent de constater, après quarante-huit heures d'étuve à 37 degrés, la présence de nombreuses colonies. L'essai de stérilisation est donc négatif. Deux jours après son exposition aux rayons ultra-violets, nous sommes frappé par le changement de teinte de la solution. Brune à l'origine, la voici maintenant d'un beau rouge vif.

Un examen spectroscopique pratiqué alors nous permet de constater que la méthémoglobine paraît avoir complètement disparu. La solution ne semble plus contenir que de l'oxyhémoglobine pure, décelée par ses deux bandes d'absorption situées entre D et E sur le spectre.

Pour nous assurer de la présence réelle de ce pigment, nous recherchons la bande de Stokes. Ce procédé d'identification de l'oxyhémoglobine consiste à additionner la solution d'un réducteur : hydrosulfite de soude en l'occurrence.

Sous son action, l'oxyhémoglobine se transforme en hémoglobine réduite, donnant dans le spectre, entre D et E, une bande d'absorption unique : la bande de Stokes. « Cette propriété est d'un grand intérêt au point de vue de l'identification du pigment. » (R. Fabre.)

Nous faisons la réaction : la bande de Stokes apparaît. Notre solution ne semble donc bien contenir que de l'oxyhémoglobine.

Désireux de vérifier l'exactitude des bandes d'absorption de la solution, nous regardons du sang frais au spectroscope. Les bandes de l'oxyhémoglobine occupent sur le spectre une place identique à celle de la solution. Le résultat est analogue pour le contrôle de la méthémoglobine obtenue en additionnant le sang frais de ferricyanure de potassium.

Assez étonné, nous nous proposons de soumettre d'autres solutions à l'action des rayons ultra-violetes quand, deux jours après cette première constatation, nous nous apercevons que la seconde partie de la solution, non irradiée et conservée à la température du laboratoire, présente elle aussi une coloration rouge vif. Des examens spectroscopiques révèlent une transformation analogue à la précédente. La méthémoglobine semble avoir complètement disparu au profit d'oxyhémoglobine pure. Il a fallu, pour obtenir ce résultat, deux jours pour une solution irradiée, quatre jours pour une solution non irradiée, conservée à la chaleur du laboratoire (environ 20 degrés).

Nous avons répété une quinzaine de fois l'expérience. Les constatations observées ont toujours été concordantes. L'apparence de disparition de la méthémoglobine est obtenue en deux jours après irradiation des solutions, en quatre jours sans irradiation, les solutions non irradiées étant maintenues à la chaleur du laboratoire. Nous avons, en effet, remarqué que, dans les solutions laissées au froid extérieur (5 à 6 degrés environ), la méthémoglobine demeure, pour paraître se transformer comme précédemment en oxyhémoglobine si ces mêmes solutions sont ramenées à la température du laboratoire (20 degrés environ).

Nous avons alors, pour nous éclairer, compulsé de nombreux ouvrages. Pour R. Fabre, en solution acide ou neutre, la bande d'absorption de la méthémoglobine est située dans le rouge du spectre. Mais en milieu alcalin, elle devient double et se superpose presque à celle de l'oxyhémoglobine. La confusion alors possible avec l'oxyhémoglobine est facilitée par le fait qu'en milieu alcalin la méthémoglobine vire au rouge.

Selon Araki, au contraire, la seule bande caractéristique de la méthémoglobine est celle située dans le rouge. Pour cet auteur, les deux bandes situées entre D et E sont attribuables à de petites quantités d'oxyhémoglobine mélangées à de la méthémoglobine.

Nous constatons que les solutions fraîches contenant oxyhémoglobine et méthémoglobine sont faiblement acides, tandis que les solutions ne paraissant plus contenir que de l'oxyhémoglobine sont alcalines.

L'action des rayons ultra-violets alcalinisant les solutions, nous nous demandons alors si nous ne sommes pas plutôt en présence de méthémoglobine confondue, dans les solutions irradiées ou exposées à la chaleur, avec l'oxyhémoglobine. Cette supposition semblerait être confirmée par les assertions de P. Martini et B. Schuler. Pour ces auteurs, en effet, « l'oxyhémoglobine par irradiation de lumière ultra-violette se transforme en méthémoglobine ».

Un point indiscutable, que nous ne pouvons éclaircir, demeure cependant en opposition avec notre dernière hypothèse : l'identification nette de l'oxyhémoglobine par le procédé de la bande de Stokes.

CHAPITRE III

PREPARATION DE SOLUTIONS D'OXYHEMOGLOBINE STABLES ET STERILES A PARTIR DE SANG FRAIS DE CHEVAL

Les différentes constatations auxquelles l'emploi de la poudre d'oxyhémoglobine nous avait conduit, l'impossibilité d'aboutir par elle à des solutions rigoureusement stables et stériles, nous mettent finalement, vers le 15 mars 1935, dans l'obligation d'abandonner complètement les poudres commerciales et d'essayer la préparation de solutions d'oxyhémoglobine à partir de sang frais d'animal.

1° CHOIX DE L'ANIMAL DONNEUR DE SANG : LE CHEVAL.

Le chien et le lapin devant ultérieurement servir à nos expériences, nous ne pouvions nous adresser à ces animaux. La préparation des solutions d'oxyhémoglobine exigeant des quantités de sang assez considérables, nous ne pouvions songer à les leur prélever. En outre, voulant utiliser des solutions d'oxyhémoglobine hétérogène, nous ne pouvions injecter de l'hémoglobine de chien à des chiens ou de l'hémoglobine de lapin à des lapins.

Notre choix s'est immédiatement porté sur le cheval. Il est, de tous les gros mammifères, celui le plus couramment employé dans les laboratoires.

Le volume important de sang qu'on peut lui soustraire impunément permettrait plus tard, si cette méthode à l'honneur d'être un jour appliqué à la clinique humaine, une fabrication facile de grande quantités de solution d'oxyhémoglobine.

2° LA RÉCOLTE DU SANG.

Muni d'un ballon de deux litres renfermant une centaine de perles de verre, et stérilisé la veille au four Pasteur, nous nous rendons vers 6 heures du matin à l'abattoir municipal de la ville de Bordeaux pour y recueillir le sang utilisé dans la plupart de nos expériences.

Le cheval, une fois assommé, est saigné par une large entaille pratiquée au niveau des vaisseaux du cou. Le sang s'échappe en jet puissant.

Nous attendons qu'un balayage mécanique de la plaie se soit réalisé pendant quelques secondes pour recueillir dans notre ballon la quantité de sang nécessaire.

Nous agissons alors immédiatement et avec vigueur le récipient, pendant une dizaine de minutes environ, pour défibriner complètement le sang.

Cette opération terminée, nous nous rendons au laboratoire pour y procéder à la fabrication des solutions d'oxyhémoglobine.

Pour les essais de préparation de solutions d'oxyhémoglobine rigoureusement stériles, la récolte du sang est faite à l'Institut Pasteur.

3° TECHNIQUE DE LA PRÉPARATION DES SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE.

Dès notre arrivée au laboratoire, dans le but de le débarrasser du magma de fibrine, nous filtrons le sang au travers d'un tamis métallique à mailles fines et le recueillons dans un deuxième ballon stérilisé à cet effet.

Nous procédons alors de la façon suivante à la préparation des solutions d'oxyhémoglobine :

a) Le sang défibriné est réparti dans des tubes à centrifugation. Nous employons une centrifugeuse de Jouan contenant 4 tubes d'une capacité de 30 cm³ chacun. Nous pouvons ainsi opérer à la fois sur 120 cm³ de sang défibriné.

Une première centrifugation de dix minutes est effectuée. Un culot constitué par l'amas des hématies est formé alors au fond des tubes.

Le sérum surnage. Nous nous en débarrassons aussi complètement que possible en l'aspirant à l'aide d'une pipette.

b) Dans le but d'éliminer le sérum restant, nous réalisons alors un premier lavage des globules rouges, à l'aide de sérum physiologique à 9 p. 1.000, dont nous remplissons les tubes.

Ce lavage est suivi d'une centrifugation de dix minutes. Le culot d'hématies demeure au fond du tube.

Le liquide surnageant, composé de sérum physiologique et du restant du sérum sanguin, est soigneusement enlevé.

c) Cette opération est répétée une seconde fois.

d) Il reste maintenant au fond de chaque tube un culot d'hématies bien lavées.

Nous ajoutons alors dans chaque tube la quantité d'eau distillée nécessaire pour rétablir le volume primitif du sang défibriné.

Il se produit une hémolyse immédiate que nous complétons par agitation du tube. Au début, nous utilisons de l'eau distillée ayant la température du laboratoire. Plus tard, suivant la technique d'Amberson, nous nous sommes servi d'eau distillée refroidie à + 4° C. par un séjour au frigidaire. On obtient ainsi une hémolyse très rapide et beaucoup plus complète.

e) Chaque tube renferme alors une solution d'oxyhémoglobine dans de l'eau distillée et des débris globulaires.

Nous y ajoutons une quantité d'éther égale au 1/10 du volume total de la solution, soit environ 3 cm³. Nous verrons au chapitre réservé à l'anaphylaxie les raisons de ce traitement de la solution par l'éther.

Une centrifugation de vingt minutes est réalisée.

f) Nous avons alors dans chaque tube un culot de centrifugation constitué par l'amas des débris globulaires et des albumines précipitées.

Le liquide surnageant est maintenant constitué par une solution pure d'oxyhémoglobine dans de l'eau distillée éthérée. Nous le prélevons, avec beaucoup de minutie, afin d'éviter d'entraîner avec lui quelques parcelles de culot, et le recueillons dans un ballon de Kitasato.

g) A l'aide d'un appareil à faire le vide, nous débarrassons complètement la solution de l'éther qu'elle renferme.

h) Nous ajoutons alors, à cette solution d'oxyhémoglobine dans de l'eau distillée, un volume égal de sérum physiologique à 48 p. 1.000.

Nous obtenons donc, en définitive, une solution pure d'oxyhémoglobine dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000.

Pour un volume primitif de 120 cm³ de sang défibriné, nous avons, en fin de préparation, après une manipulation d'une durée de deux heures, 240 cm³ environ de solution d'oxyhémoglobine.

Cette solution est celle utilisée pour toutes nos expériences.

Quelle est, en hémoglobine, la concentration de ces solutions ?

Le taux de concentration de l'hémoglobine dans le sang varie sensiblement suivant les auteurs, et, d'après eux, oscille entre 13 et 16 grammes p. 100.

Nous établissons une moyenne et pouvons admettre que le taux d'hémoglobine est de 14 grammes p. 100 cm³ de sang.

Pour un volume primitif de sang de 100 cm³, par exemple, nous obtenons un volume de 200 cm³ de solution définitive, dont la concentration en hémoglobine est donc la moitié de celle du sang primitif. Autrement dit : 100 cm³ de solution définitive renferment environ 7 grammes d'hémoglobine. Ce chiffre a été reconnu exact à l'hémomètre Zeiss.

Il n'y a pas intérêt, croyons-nous, — et nous le verrons plus loin au cours de l'exposé détaillé de nos expériences, — à préparer des solutions à concentration plus élevée. La quantité d'hémoglobine fixée par l'organisme de ces chiens transfusés à la suite d'anémies expérimentales aiguës par saignée a été, proportionnellement au poids de l'animal,

à peu près la même pour tous. Elle représente en moyenne les 5/6 de l'hémoglobine injectée. Le 1/6 restant a été éliminé sous forme d'hémoglobinurie.

Des contrôles spectroscopiques pratiqués à la fin de chaque préparation de solution montrent qu'il s'agit bien là d'oxyhémoglobine, à l'exclusion de tous autres dérivés de ce composé du sang.

4° CES SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE SONT-ELLES STÉRILES ?

Le sang utilisé pour la majorité de nos expériences a été, comme nous le signalons précédemment, recueilli à l'abattoir.

Cette récolte, aussi minutieuse qu'elle ait été, n'a cependant pu être réalisée d'une manière rigoureusement aseptique. Nous attendions bien quelques secondes après la saignée de l'animal avant de recueillir le sang. Un nettoyage mécanique de la plaie s'effectuait ainsi, mais il était vraisemblablement insuffisant.

Le sang prélevé, les différentes manipulations de la préparation des solutions d'oxyhémoglobine ont été effectuées d'une manière aseptique.

Nous avons, comptant sur son pouvoir bactéricide, prolongé volontairement le temps d'action de l'éther, et sommes arrivé ainsi à obtenir des solutions stériles, comme l'ont prouvé les ensemencements faits sur bouillon et gélose inclinée dont les résultats ont été négatifs.

Le sang utilisé dans nos dernières expériences a été prélevé d'une façon rigoureusement aseptique dans les locaux de l'Institut Pasteur.

Les manipulations, conduites comme précédemment, nous ont permis d'obtenir des solutions d'oxyhémoglobine absolument stériles.

Pour nos premières expériences, des possibilités de souillure étaient également apportées par l'emploi de tubes à centrifuger ouverts. Pour y remédier, nous avons utilisé par la suite des tubes à centrifugation fermés par des bouchons en métal vissés.

Une obturation hermétique est réalisée par une rondelle de caoutchouc d'un diamètre égal à celui du bouchon et adaptée entre celui-ci et le tube.

Ces diverses pièces ont été stérilisées avant l'emploi. Au moment d'en faire usage, nous avons pris la précaution de filtrer nos solutions au travers d'une épaisseur de 1 centimètre environ de coton hydrophile, préalablement stérilisé, afin de les débarrasser complètement des débris globulaires qui pourraient encore s'y trouver en suspens.

Ces solutions stériles d'oxyhémoglobine étaient toujours réalisées la veille ou le matin même du jour de leur utilisation. Nous avons remarqué qu'une altération se produisait si nous les abandonnions quelques jours au contact de l'air et à la chaleur ambiante. Aussi, avons-nous été amené à rechercher une méthode efficace pour la conservation de ces solutions.

5° ESSAI DE CONSERVATION DES SOLUTIONS D'OXYHÉMOGLOBINE.

Le 20 septembre 1935, nous préparons en nous servant de sang de cheval, prélevé d'une manière rigoureusement aseptique à l'Institut Pasteur, environ 200 cm³ de solution d'oxyhémoglobine pure et stérile.

Nous les répartissons ce même jour en ampoules de 5, 10 et 20 cm³ que nous scellons aussitôt.

Ces ampoules, revêtues d'une étiquette mentionnant la date de préparation de la solution, sont mises au frigidaire à la température de + 4° C.

Un contrôle spectroscopique pratiqué chaque jour nous montre que nous sommes bien en présence d'oxyhémoglobine pure, à l'exclusion de tous autres de ses dérivés.

Cette solution, réalisée en vue des essais de conservation, est encore, deux mois après sa préparation, dans le frigidaire du laboratoire. Elle a conservé sa magnifique teinte rouge vif, et les résultats fournis par des contrôles spectroscopiques, régulièrement pratiqués, demeurent identiques à ceux des premiers jours.

Nous avons préparé dans la suite des quantités relativement importantes de solutions. Mises en ampoules de 50 cm³, elles étaient conservées au frigidaire où nous les prenions au fur et à mesure de nos besoins. Nous n'avons jamais constaté la moindre altération de ces solutions. Leur parfaite conservation paraît bien être prouvée par le fait suivant :

Pendant tout le mois d'octobre, nous avons injecté, tous les trois jours, des lapins, avec une solution d'oxyhémoglobine préparée le 23 septembre et conservée depuis en ampoules scellées au frigidaire à la température de + 4° C.

Nous n'avons jamais observé d'accidents chez ces animaux.

En résumé :

D'après les résultats fournis par les expériences et les contrôles spectroscopiques précédemment exposés, nous pensons pouvoir être en mesure d'écrire :

— On peut aboutir, malgré des manipulations nombreuses, à des solutions d'oxyhémoglobine parfaitement pures et stériles;

— Ces solutions, mises en ampoules scellées et placées au frigidaire à la température de + 4° C, peuvent être conservées sans altération pendant une période d'au moins deux mois, durée de notre expérimentation sur ces essais.

CHAPITRE IV

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE NOS SOLUTIONS D'HEMOGLOBINE

Nous exposerons très brièvement dans ce chapitre les résultats des études physico-chimiques relatives aux différentes solutions d'hémoglobine que nous avons employées.

1° *Teneur en hémoglobine.* — La teneur en hémoglobine de nos différentes solutions a été mesurée à l'hémomètre Zeiss.

2° *Viscosité.* — La mesure de la viscosité a été réalisée au viscosimètre de Hess à la température de 20 degrés.

En voici les résultats :

Solution à 14 p. 100 : viscosité = 4,3;

Solution à 7 p. 100 : viscosité = 1,7;

Solution à 3,5 p. 100 : viscosité = 1,2.

Il nous a paru intéressant de rechercher quelle était la viscosité du sang de cheval défibriné.

Sang de cheval défibriné : viscosité = 3,7.

A 37 degrés, la viscosité du sang complet donne des chiffres voisins de 5. Celle du sérum est comprise entre 1,5 et 2 (d'après F. Fabre).

3° *Pression osmotique totale.* — La mesure de la pression osmotique de nos solutions d'hémoglobine à concentrations différentes a été établie par M. le Professeur Wangermez par la méthode cryoscopique.

Rappelons que l'hémoglobine de nos solutions est diluée dans du sérum physiologique à 9 p. 1.000.

Pression osmotique totale :

Solution à 14 p. 100 : 20,76 atmosphères;

Solution à 7 p. 100 : 10,30 atmosphères;

Solution à 3,5 p. 100 : 8,8 atmosphères.

La pression osmotique totale du sang est de 6,66 atmosphères. Nos solutions, même celle dont la concentration était la plus faible, se sont donc révélées comme étant très hypertoniques.

Ce sont ces solutions cependant que nous avons utilisées par empirisme au cours de nos recherches, et, sans doute, apparaît-il que cette question de tension osmotique totale n'a pas une importance primordiale, puisque nous avons obtenu, comme nous le verrons, les meilleurs résultats, non pas avec la solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100 dont la tension osmotique se rapproche beaucoup de celle du sang, mais avec la solution à 7 p. 100, dont la tension est plus éloignée de cette dernière.

Il apparaît en effet que, plus que la pression osmotique totale, c'est la pression colloïdale osmotique qui importe.

Toutefois, nous avons demandé à M. le Professeur Wangermez de bien vouloir établir, en partant des solutions d'hémoglobine dans de l'eau distillée, quelle quantité de ClNa il faudrait y ajouter pour les rendre isotoniques.

Ce serait :

4 g. 75 de ClNa p. 1.000 pour la solution à 3,5 p. 100;

3 g. 60 de ClNa p. 1.000 pour la solution à 7 p. 100.

Cette même détermination a été impossible pour la solution d'hémoglobine à 14 p. 100, qui, dans l'eau distillée, est déjà, par elle-même, hypertonique.

Le temps nous a manqué pour expérimenter ces solutions isotoniques.

4° Le pH de nos solutions, déterminé par la méthode électrométrique, est de 6,9.

5° La pression colloïdale osmotique de la solution à 7 p. 100 est de 24 millimètres de mercure environ, c'est-à-dire à peu près égale à celle du sérum sanguin normal. Le temps a manqué pour déterminer la pression colloïdale osmotique des solutions à 3,5 et à 14 p. 100. Mais si nous nous reportons au travail d'Amberson, qui a trouvé une pression colloïdale osmotique de 55 à 60 millimètres de mercure pour ses solutions à 14 p. 100, nous sommes en droit de penser que notre propre solution à 14 p. 100 doit avoir une pression colloïdale analogue.

CHAPITRE V

TECHNIQUE OPERATOIRE

Après de longues semaines de tâtonnements, qui nous avaient rendu impatient de progresser dans nos recherches, nous nous trouvons enfin, le 21 mars 1935, en possession d'une solution pure d'oxyhémoglobine obtenue à partir de sang frais de cheval.

Le même jour, très désireux de voir comment se comporteraient les animaux, nous pratiquons sur un lapin de 1 kg. 400 une injection intraveineuse de 6 cm³ de solution d'oxyhémoglobine à 7 p. 100 préparée le matin même. Cette injection, poussée lentement par la veine marginale de l'oreille, n'amène chez l'animal aucune réaction. Quelques instants après, réintégré dans sa cage, il mange avec appétit. Ce lapin a continué depuis à prospérer, et nous nous en sommes servi ultérieurement pour la recherche, d'ailleurs infructueuse, de la sensibilisation anaphylactique.

Le 22 mars, utilisant le reste de la solution préparée la veille, nous tentons, sur un chien cette fois, un nouvel essai. Cet animal, récemment opéré de gastrectomie, devait être sacrifié le lendemain en vue d'examens histologiques. Sur ce chien moribond (nous devons le porter dans la salle d'opération), nous pratiquons une injection intraveineuse de 25 cm³ de solution d'oxyhémoglobine à 7 p. 100 suivie d'une injection intramusculaire fessière de 30 cm³ de la même solution. Les injections à peine terminées, l'animal, revigoré, peut regagner seul la pièce qui lui est réservée. Nous ne notons chez lui aucune espèce de choc. Il est sacrifié le lendemain.

L'examen des masses musculaires fessières n'offre aucune particularité. Toute la solution a été résorbée.

Encouragé par ces deux premiers résultats, nous décidons alors de tenter, sur une série de chiens, des transfusions d'oxyhémoglobine de cheval, après avoir réalisé chez ces animaux une anémie expérimentale aiguë par saignée.

I. — La saignée chez le chien.

Il fallait avant tout, pour affirmer l'efficacité des transfusions de solution d'oxyhémoglobine, que la saignée réalisée sur l'animal fût telle qu'il ne puisse reconstituer sa masse sanguine, ni spontanément, ni sous l'influence d'une injection de sérum.

La détermination du volume que doit atteindre une saignée pour être fatalement mortelle chez le chien a fait l'objet de nombreuses recherches.

Toutes les citations de ce chapitre sont extraites de l'étude sur les « Hémorragies », publiée par M. le Professeur H. Delaunay, dans le *Traité de physiologie de Rôger et Binet*.

Outre l'exposé de ses recherches personnelles sur le sérum salé-gommé et sur l'injection de sérum artificiel contenant en suspension des hématies hétérogènes dans le traitement des anémies expérimentales aiguës par saignée, l'auteur met au point l'étude physiologique des hémorragies.

« D'après Hayem, les chiens bien portants et alimentés succombent rarement avant d'avoir perdu 5 p. 100 au moins du poids du corps. D'après Frédéricq, la saignée devient dangereuse lorsqu'elle est comprise entre 2, 3 p. 100 et 4,5 à 5 p. 100. Il signale la chute considérable de la pression, l'accélération du rythme cardiaque. La saignée est mortelle lorsqu'elle dépasse 4,5 à 5 p. 100 du poids du corps. »

Si nous envisageons le volume de la saignée à réaliser, non par rapport au poids du corps, mais en considération de la masse sanguine, il faut, pour le calcul de cette dernière,

nous reporter à Ch. Richet : « Pour cet auteur, la masse sanguine est d'environ $1/13$ du poids pour les chiens de petite taille (10 kilos et moins) et de $1/15$ seulement pour les gros chiens (12 à 25 kilos). »

« D'après E. Zung et P. Govaerts, pour réaliser chez le chien un collapsus posthémorragique qui se termine en quelques heures par la mort, on doit prélever, dans 71,67 p. 100 des cas, 45 à 65 p. 100 du volume sanguin calculé d'après la méthode de Ch. Richet; dans 10 p. 100 des cas, 35 à 40 p. 100 de sang seulement; enfin, dans 18,33 p. 100 des cas, la saignée doit dépasser 65 p. 100 de la masse sanguine. »

On voit par ces différents chiffres qu'on ne peut, pour réaliser chez le chien une saignée fatalement mortelle, sans intervention, se baser sur des données purement mathématiques. Là, comme partout, la clinique joue le plus grand rôle.

Dans toutes les saignées que nous avons réalisées, nous nous sommes efforcé d'atteindre la masse limite calculée par rapport au poids de l'animal. Nous n'avons pu y parvenir pour tous nos chiens.

Nos animaux d'expérience provenaient de la fourrière et étaient parfois difficiles à obtenir. Nous étions obligé, souvent, de les opérer dans un état de santé peu satisfaisant. Hayem, lui-même, fait remarquer que les chiens de cette provenance supportent des saignées beaucoup moins importantes que ceux qui sont vigoureux et bien alimentés.

Notre désir d'obtenir une déperdition sanguine limite, malgré ces facteurs de dénutrition et de pauvreté physique alliés parfois à un état de vieillesse, a causé la mort, par hémorragie seule, de plusieurs de nos chiens.

Pour les autres, un peu moins respectueux des chiffres classiques, nous avons arrêté la saignée quand nous jugions qu'une déperdition sanguine supplémentaire ne pourrait être supportée par l'animal, même avec transfusion.

II. — Technique de la saignée.

Nous avons pratiqué, dans toute notre expérimentation, la saignée de nos chiens par le bout céphalique d'une veine jugulaire. Ce vaisseau, abordé par une incision médiane sur la face antérieure du cou, est soigneusement dénudé sur un trajet de plusieurs centimètres.

Nous utilisions au début, pour la saignée proprement dite, un siphonage pratiqué à l'aide d'une aiguille de 20/10 reliée à un tube de caoutchouc. Le sang était recueilli dans un récipient gradué. Mais sa coagulation extrêmement rapide nous gênait beaucoup.

Aussi, avons-nous, dans la suite, abandonné cette méthode.

Les saignées furent alors réalisées par aspiration, pratiquée soit avec une seringue de 100 cm³, soit, le plus souvent, à l'aide d'un appareillage composé d'un ballon porteur d'une tubulure latérale. Celle-ci est reliée, par l'intermédiaire d'un tube de caoutchouc, à l'aiguille de ponction. Il suffit de pratiquer une aspiration buccale par l'orifice supérieur du ballon pour que le sang afflue dans ce dernier.

Cet ensemble est la copie réduite de celui conçu par Jullien-Viéroz pour le prélèvement du sang chez les donneurs. Le calibre des aiguilles oscille entre 15/10 et 20/10. Nous avons employé, pour éviter la coagulation dans les tubes de caoutchouc, des solutions de citrate de soude à 10 p. 100.

Nos chiens ont toujours été placés en position de Trendelenburg dès que la saignée commençait à avoir quelque importance. Cette pratique a pour but d'éviter l'anémie bulbaire et de faciliter en même temps la saignée par l'augmentation de calibre de la jugulaire.

A la fin de l'expérience, nous avons pratiqué sur la jugulaire de ponction deux ligatures aux fils de lin, enfermant entre elles les points de dilacérations produits par les piqûres successives de l'aiguille.

Les premières opérations ont été réalisées sous anesthésie

locale de la région du cou à la novocaïne ou à l'aide d'un soluté de chlorhydrate de cocaïne dans de l'eau distillée à raison de 1 centigramme par centimètre cube.

Nous avons remarqué que certains chiens ont présenté sous leur action un état de dépression manifeste. Aussi avons-nous abandonné dans la suite l'anesthésie locale au profit d'une courte anesthésie générale au chloroforme, arrêtée dès la fin de la dénudation des veines jugulaires.

Il faut, pour parvenir sans accidents graves à la limite extrême de déperdition sanguine, que la saignée soit réalisée lentement et sans à-coups, afin de laisser à l'organisme le temps de réagir contre la perte de sang. Dans le cas contraire, la mort risque de survenir très rapidement par syncope, avant même d'avoir atteint le seuil mortel.

Quelques-uns de nos chiens sont morts ainsi, après des saignées égales et inférieures même à 5 p. 100 du poids du corps, mais faites en trente minutes environ.

D'après les résultats de notre expérimentation, nous croyons pouvoir affirmer qu'il faut au moins une heure pour réaliser chez le chien une déperdition sanguine, d'ailleurs considérable, de 50 grammes de sang par kilo d'animal, si l'on veut garder la possibilité de sauver ce dernier par une transfusion de sang complet ou de solution d'oxyhémoglobine.

III. — Comportement du chien au cours de la saignée.

Un prélèvement sanguin de 300 cm³ effectué sur un chien de poids moyen (15 kilos), maintenu en position horizontale, ne produit en général aucun accident. Si l'on augmente le volume de la saignée, on voit rapidement apparaître une accélération du rythme respiratoire, due vraisemblablement à une légère anémie bulbaire. Le passage de la position horizontale à celle de Trendelenburg enrayer très vite ce petit accident.

Si l'on poursuit encore la saignée, une phase d'excitation, pendant laquelle le chien se débat et hurle, est rapidement suivie, lorsque la déperdition sanguine atteint 650 à 700 cm³, d'une phase de grand abattement. L'animal ne crie plus. L'œil est terne, les pupilles extrêmement dilatées, les muqueuses décolorées, les extrémités froides. Les mouvements respiratoires deviennent très rapides et très superficiels, puis se ralentissent. On note une accélération très marquée du nombre des pulsations, qui devient incomptable. « Cette tachycardie s'accompagne souvent d'arythmie. Elle augmente au fur et à mesure que la pression artérielle baisse, car, suivant la loi de Marey, le cœur bat d'autant plus fréquemment qu'il éprouve moins de peine à se vider. » (Delaunay.)

Toutes ces réactions de l'organisme sont, en général, à leur paroxysme lorsque la perte sanguine atteint un volume de 750 cm³, représentant le seuil mortel pour le chien de 15 kilos. Si l'on poursuit encore la saignée, « la respiration devient irrégulière et intermittente. L'animal présente de grandes convulsions, ses sphincters se relâchent. Le cœur se ralentit, puis s'arrête, et la mort survient. » (Delaunay.)

On remarque que, chez certains animaux âgés ou en état de dénutrition, les réactions graves de l'organisme se produisent avant même d'avoir atteint le seuil donné comme mortel par les auteurs.

IV. — Technique de la transfusion de solution d'oxyhémoglobine.

La transfusion de solution d'oxyhémoglobine se réalise d'une façon semblable à la transfusion de sang complet. Les solutions, préparées la veille ou plusieurs jours avant la transfusion et conservées en ampoules scellées au frigidaire, à la température de + 4° C., sont, avant l'injection, réchauffées dans un bain-marie à 40 degrés.

Au cours de nos premières expériences, nous avons prati-

qué la transfusion par le bout proximal d'une veine fémorale, dénudée au cours de la saignée.

Plus tard, désireux d'éviter toutes plaies inutiles, nous avons injecté la solution par le bout proximal d'une des veines jugulaires, l'autre ayant servi à la saignée.

En raison de la proximité immédiate du cœur droit, qu'un apport brutal de masse liquide risquerait de déborder, les transfusions de solution d'oxyhémoglobine, pratiquées chez le chien par la veine jugulaire, demandent à être poussées avec une extrême lenteur. Nous verrons plus loin, au cours de l'exposé de nos expériences, que la mort du chien n° 8 paraît être entièrement attribuable à la grande rapidité de l'injection de la solution d'oxyhémoglobine.

Pour réaliser la transfusion, nous avons employé indifféremment soit un appareillage semblable à celui conçu par Jullien-Viéroz pour les transfusions de sang conservé, soit, le plus souvent, le corps d'une seringue de 100 cm³ faisant entonnoir et relié par un tube de caoutchouc à l'aiguille d'injection. Le liquide s'écoule lentement et sans à-coups du seul fait de la pesanteur.

Nous avons utilisé des aiguilles à calibre de 10/10, notablement inférieur donc à celui des aiguilles de ponction, et présentant de ce fait le double avantage de faciliter l'entrée de l'aiguille dans une veine très aplatie et de permettre l'écoulement lent du liquide.

La durée de cette injection automatique varie avec la viscosité du liquide de perfusion. Nous avons noté au cours de nos expériences des écarts de temps relativement importants, suivant la teneur en hémoglobine de nos solutions.

Il reste à indiquer maintenant quelles quantités de solutions d'oxyhémoglobine sont injectées au chien sur lequel nous réalisons une saignée d'environ 50 grammes par kilo d'animal.

Il y a quelques années, sous l'impulsion de plusieurs travaux importants, il était de mise, dans la technique des transfusions humaines, de remplacer, dans la mesure du pos-

sible, centimètre cube par centimètre cube après une hémorragie grave. Cette méthode est actuellement délaissée. Les auteurs estiment que l'organisme peut, sans le secours d'une transfusion, réparer une perte de sang égale à 25 p. 100 de la masse sanguine totale. La transfusion doit, si l'importance de l'hémorragie dépasse cette limite, viser uniquement à ramener l'organisme à ce chiffre. Nous inspirant de cette dernière méthode, nous avons injecté à nos animaux d'expériences des quantités de solution d'oxyhémoglobine très inférieures au volume de la déperdition sanguine et généralement égales à la moitié de celle-ci. Pour les chiens petits, l'importance de la transfusion est proportionnellement un peu supérieure à celle réalisée chez les animaux plus gros. Le retour à la normale semblable dans les deux cas, est généralement obtenu dans le même laps de temps.

Signalons enfin qu'après la transfusion de solution d'oxyhémoglobine, les animaux sont ramenés lentement de la position de Trendelenburg à la position horizontale.

CHAPITRE VI

EXPERIENCES REALISEES AVEC DES SOLUTIONS D'OXYHEMOGLOBINE HETEROGENE à 7 p. 100

Suivant la technique opératoire précédemment décrite, nous avons pratiqué, sur une série de chiens, des injections de solutions d'oxyhémoglobine à 7 p. 100, après avoir réalisé chez ces animaux une anémie aiguë par saignée.

Dans nos expériences de début, nous nous sommes contenté de voir si l'on pouvait remplacer efficacement et sans accident une transfusion de sang complet par une transfusion de solution d'hémoglobine hétérogène chez des chiens saignés à mort. Par la suite, de nombreux examens du sang et des urines ont été systématiquement pratiqués pendant les deux jours précédant l'intervention et jusqu'au complet rétablissement de l'animal.

CHIEN N° 1.

Poids : 19 kg. 500 (25 mars 1935). L'animal paraît être en très bonne santé.

Après anesthésie de la région à la novocaïne, nous dénudons la veine fémorale droite; puis nous commençons la saignée. Nous retirons 250 cm³ de sang. Mais la coagulation extrêmement rapide de ce sang et l'absence d'un matériel opératoire suffisant nous empêchent d'aller plus avant. Nous remettons au lendemain la fin de l'opération. Le chien est alors ramené dans sa niche, où on le laisse privé de nourriture et de boisson.

26 mars : Après anesthésie locale à la novocaïne, nous dénudons la veine jugulaire gauche. La saignée de l'animal est effectuée au

moyen d'un trocart de 20/10 relié à un tube de caoutchouc de 80 centimètres faisant siphonage et placé dans le bout céphalique de ce vaisseau. Afin d'éviter la coagulation extrêmement rapide du sang, cet appareil a été préalablement lavé avec une solution de citrate de soude à 10 p. 100. L'animal est placé en position de Trendelenburg. Le siphonage permet de retirer facilement 450 cm³ de sang. Mais le caoutchouc se bouche peu à peu. La saignée est terminée avec des seringues de 20 cm³.

Le volume du sang enlevé dans cette séance opératoire atteint 700 cm³. Le chien a alors des contractures : ses pupilles sont dilatées au maximum; son pouls est à 240. La saignée est arrêtée. Elle s'élève, y compris celle de la veille, à 950 cm³, soit environ 50 grammes par kilo d'animal.

Par le bout proximal de la jugulaire, nous pratiquons alors une injection de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 25 mars.

En dix minutes environ, nous procédons à une transfusion de 300 cm³ de cette solution, soit 21 grammes d'hémoglobine.

Dès le début de l'injection, la respiration du chien, jusque-là pénible et superficielle, devient très rythmée, avec une amplitude considérable. Puis l'animal présente une période d'excitation très grande, pendant laquelle il se débat et aboie.

Peu à peu, la respiration redevient normale; le pouls tombe à 180, puis à 160.

A la fin de la transfusion, l'animal est ramené lentement à la position horizontale.

Nous ligaturons en deux endroits la veine jugulaire. Après hémostase soigneuse, la plaie est fermée aux crins.

Détaché et posé à terre, le chien se met immédiatement sur ses pattes et marche dans le laboratoire. Il présente une phase d'excitation intense avec titubation et état d'ivresse manifeste, dus vraisemblablement à l'éther servant à la préparation de la solution d'oxyhémoglobine et dont elle n'a été qu'incomplètement débarrassée.

Après une période d'agitation d'environ cinq minutes, le chien se calme et redevient normal. Il boit avec avidité. Il est alors ramené dans sa niche.

27 mars : Le chien est en excellent état et montre un gros appétit. Dans la pièce où l'animal a passé la nuit, nous trouvons une grande flaque d'urine hémoglobinurique d'une teinte brun acajou. Nous en prélevons une vingtaine de centimètres cubes et les centrifugeons. Le culot de centrifugation renferme uniquement des cristaux d'urate. Ni cellules, ni hématies, ni cylindres.

Ce chien est demeuré tout à fait bien portant. Le 3 mai, il nous a servi à des tentatives, infructueuses d'ailleurs, de choc anaphylactique, à la suite d'une deuxième injection de solution d'oxyhémoglobine de cheval.

Cet animal sert actuellement à d'autres expériences au Laboratoire de médecine expérimentale. A l'occasion de celles-ci, les examens suivants ont été pratiqués :

Urée sanguine, 0,20;
Cholesterolémie, 1,60;
Lipémie, 4 g. 78;
Urines normales.

Ces résultats sont absolument normaux.

CHIEN N° 2.

Poids : 20 kilos (30 mars 1935).

Nous opérons sur un animal ne paraissant pas être en très bonne santé. Un amaigrissement sensible s'est produit depuis son arrivée au laboratoire, deux semaines auparavant.

La dénudation de la veine jugulaire gauche sous anesthésie locale à la novocaïne est difficile. On y parvient au bout d'un long moment, après avoir été obligé d'agrandir l'incision.

Le chien est mis en position de Trendelenburg.

On pratique la saignée par le bout céphalique de la veine dénudée. On retire ainsi sans incident 900 cm³ de sang. Le sang se coagule alors et obstrue les tubes de caoutchouc. La veine fémorale gauche, qui a été dénudée en vue de l'injection de solution d'oxyhémoglobine, est ponctionnée. On retire ainsi 100 cm³ de sang.

Ce chien a perdu 1.000 grammes de sang, soit exactement 50 grammes par kilo d'animal.

Il est extrêmement abattu. L'œil est terne, les muqueuses très pâles, les extrémités froides. La respiration est superficielle, le pouls incomptable. On arrête la saignée et on procède alors à l'injection d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 29 mars.

Cette solution, réchauffée dans un bain-marie à 40 degrés, est injectée par la veine fémorale gauche.

Le chien, qui était très prostré, se débat et aboie dès le début de l'injection. Sa respiration, très difficile et superficielle depuis la fin de la saignée, redevient profonde et très régulière.

L'animal reçoit ainsi 400 cm³ de solution, soit 28 grammes d'hémoglobine.

Nous fermons rapidement les deux plaies et appliquons un pansement compressif sur la région du cou.

Le chien, alors détaché et mis à terre, ne peut tout de suite se mettre sur ses pattes; il y parvient sans tarder, mais présente une phase de titubation qui dure environ cinq minutes. Puis, il paraît aller beaucoup mieux, se promène dans le laboratoire et boit un peu.

Une demi-heure environ après la fin de l'opération, nous nous voyons obligé de débrider la plaie du cou, qui saigne assez abondamment, et de compléter l'hémostase. Une mèche est laissée dans la plaie et un pansement compressif est appliqué.

A la suite de cette seconde intervention, l'animal est laissé, quoiqu'assez abattu, dans un état relativement bon.

31 mars : Nous retrouvons le chien mort.

Le sol est souillé de nombreuses traînées de sang. L'animal a vomi; il n'a pas uriné.

La mort de ce chien nous paraît due aux causes suivantes :

1° Shock opératoire très grand par suite de la recherche assez longue de la veine jugulaire et de la nécessité d'une deuxième intervention;

2° Pendant la nuit, hémorragie postopératoire assez importante.

CHIEN N° 3.

Poids : 21 kilos (4-avril 1935).

Nous opérons un animal paraissant être en très bonne santé.

Le chien est mis en position de Trendelenburg. Sous anesthésie locale, nous abordons la veine jugulaire gauche.

Avec le même protocole opératoire que pour les chiens précédents, nous pratiquons une saignée de 1.000 cm³.

A la fin de la saignée, le chien est dans un état comateux. Il ne réagit plus. Sa respiration est courte, pénible. Son pouls incomptable. Par la veine fémorale gauche, dénudée pendant la saignée, nous injectons alors 400 cm³ de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 1.000, préparée le 3 avril, soit 28 grammes d'hémoglobine. Dès le début de l'injection, l'animal réagit. Il gémit et se débat. Ses mouvements respiratoires deviennent rapidement amples et profonds. Son pouls est mieux frappé.

L'amélioration survenue est absolument saisissante.

Après hémostase soignée, les deux plaies sont fermées. Pansement compressif sur la région jugulaire.

Le chien est détaché et mis à terre. Après une ou deux minutes de faiblesse, il se met sur ses pattes et marche dans la salle d'opération.

Mais environ un quart d'heure après, le chien, dont l'état était aussi satisfaisant que possible, commence à saigner si abondamment de sa plaie fémorale que nous nous voyons obligé de le remettre sur la table d'opération pour débrider la plaie. Le sang, provenant des masses musculaires, coule en nappe. Nous essayons en vain de réaliser l'hémostase.

Après une demi-heure d'efforts inutiles, le chien meurt, littéralement saigné à blanc.

CHIEN N° 4.

Poids : 19 kilos (16 avril 1935). L'animal paraît être en bonne santé.

Le protocole opératoire est semblable à celui utilisé pour les chiens précédents.

L'animal est saigné facilement de 950 cm³.

Nous ne dénudons pas de veine fémorale, pensant pouvoir réaliser la transfusion de solution d'oxyhémoglobine par la voie jugulaire. Nous ne pouvons y parvenir, ce vaisseau étant complètement thrombosé et oblitéré à la suite des nombreuses piqûres du trocart.

Le chien meurt pendant que nous essayons de dénuder la veine fémorale gauche et avant d'avoir reçu l'injection de la solution d'oxyhémoglobine de cheval préparée le 15 avril.

Nous considérons ce chien comme animal témoin.

CHIEN N° 5.

Poids : 14 kilos (2 mai 1935). L'animal est vieux, très gras et paraît peu résistant.

Nous pratiquons une anesthésie locale de la région jugulaire gauche à l'aide d'un soluté de chlorhydrate de cocaïne dans de l'eau distillée à raison de 1 centigramme par centimètre cube.

L'animal reçoit 20 cm³ de ce soluté.

Cette dose apparaît comme trop importante. Quelques minutes après l'injection, on note un ralentissement net de la respiration. Le chien est très abattu.

L'animal est mis en position de Trendelenburg. Il ne réagit pas durant tout le temps de l'opération.

Lorsque le volume de la saignée atteint 650 cm³, l'animal est très prostré. Sa respiration n'est que de 8 à la minute.

Nous décidons d'interrompre la saignée et de procéder à l'injection de 300 cm³ d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 1^{er} mai.

L'animal reçoit ainsi 21 grammes d'hémoglobine.

Alors que les premiers centimètres cubes de l'injection amenaient chez les chiens précédents une réaction immédiate et un mieux manifeste, la solution d'oxyhémoglobine n'apporte chez cet animal aucune amélioration à un état de shock constaté dès la fin de l'anesthésie.

L'animal meurt vers la fin de l'injection sans avoir aucunement réagi.

CHIEN N° 6.

Poids : 13 kg. 500 (27 septembre 1935). L'animal paraît être en très bonne santé.

Incision médiane sur la face antérieure du cou. Les veines jugulaires droite et gauche sont rapidement dénudées.

L'animal est mis en position de Trendelenburg.

La saignée, volontairement pratiquée lentement et réalisée d'une manière continue, est faite par la veine jugulaire droite. En une heure trois quarts, nous prélevons 600 cm³ de sang. L'animal est alors dans un état d'abattement extrême. Son pouls est petit, très rapide. Sa respiration est superficielle et difficile. Nous interrompons la saignée.

La veine jugulaire droite est liée immédiatement en deux points, enfermant entre eux les dilacérations produites par les piqûres successives de l'aiguille de ponction.

A l'aide d'une seringue de 100 cm³, nous injectons lentement par la veine jugulaire gauche 250 cm³ d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, préparée le 23 septembre et conservée depuis en ampoules scellées au frigidaire à + 4° C. Elle est, avant l'injection, réchauffée dans un bain-marie à 40 degrés. Dès le début de l'injection, l'animal, qui était dans un état très alarmant, s'agite et gémit. Sa respiration s'accélère, devient ample, profonde, très régulière. Le pouls tend à redevenir normal et bien frappé.

A la fin de l'injection, d'une durée de dix minutes, l'animal est ramené doucement en position horizontale. Il a reçu 17 g. 5 d'hémoglobine.

Deux mèches sont bourrées dans la plaie, que l'on ferme aux crins. Pansement compressif.

Le chien, alors détaché et mis à terre, se met immédiatement sur ses pattes et marche dans le laboratoire. Il présente pendant un instant une légère titubation, puis est ramené en excellent état dans la pièce qui lui est réservée. Il refuse de boire.

Le même jour, à 15 heures, nous retrouvons l'animal un peu abattu. Il boit avec avidité un demi-litre de lait sucré.

Examen de sang pratiqué quatre heures après l'opération :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 17 minutes;
Hématies, 2.500.000;
Leucocytes, 17.360;
Polyneutro, 88 p. 100;
Lympho, 11 p. 100;
Mono, 1 p. 100.

28 septembre : Lendemain de l'opération; le chien est en parfait état et mange avec appétit une soupe de viande et de pain. Ce même jour, dix-huit heures environ après l'opération, l'animal émet 350 cm³ d'une urine couleur porto, dont le dosage décèle l'élimination de 1 g. 57 d'hémoglobine.

Examens de sang pratiqués à jeun :

Hémoglobine, 75 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 3.400.000;
Leucocytes, 13.640;
Polyneutro, 69 p. 100;
Lympho, 31 p. 100.

29 septembre : L'animal est en parfait état. 300 cm³ d'urine, encore légèrement teintée en brun, ont été émis depuis la veille. Le dosage y décèle 0 g. 18 d'hémoglobine.

30 septembre : L'animal se maintient en parfait état.

La plaie ne suppure pas. Suppression des mèches.

Examens de sang pratiqués à jeun :

Hémoglobine, 80 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 4.000.000;
Leucocytes, 9.300;

Polyneutro, 52 p. 100;

Eosino, 1 p. 100;

Lympho, 44 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 1 p. 100.

Depuis la veille, 400 cm³ d'urine ont été émis. Ils ne contiennent plus que 0 g. 054 d'hémoglobine.

1^{er} octobre :

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 15 minutes;

Hématies, 4.350.000;

Leucocytes, 9.200;

Polyneutro, 74 p. 100;

Lympho, 22 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 2 p. 100.

2 octobre :

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 4.870.000;

Leucocytes, 9.300;

Polyneutro, 70 p. 100;

Lympho, 30 p. 100;

Aucune trace d'hémoglobine dans les urines.

3 octobre :

Hémoglobine, 90 p. 100;

Hématies, 5.200.000;

Leucocytes, 9.200.

L'état de ce chien se maintient parfait; nous considérons l'animal comme redevenu absolument normal et abandonnons tous examens.

La quantité d'hémoglobine injectée a été de 17 g. 5.

La quantité d'hémoglobine éliminée par les urines a été de 1 g. 804.

Au mois de novembre 1935, cet animal a servi à d'autres expériences dans le laboratoire de médecine expérimentale. A l'occasion de celles-ci, les examens suivants ont été pratiqués :

Urée sanguine, 0,22;
Cholestérolémie, 1,58;
Lipémie, 4,43;
Glycémie, 0,97;
Urines normales.

Ces résultats sont absolument normaux.

CHIEN N° 7.

Poids : 20 kilos (4 octobre 1935). L'animal est âgé et ne paraît pas être très résistant.

Pendant les deux jours qui précèdent l'opération, nous pratiquons sur l'animal à jeun des examens de sang qui donnent les résultats suivants :

4 octobre :

Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 14 minutes;
Hématies, 5.560.000;
Leucocytes, 11.800;
Polyneutro, 85 p. 100;
Lympho, 15 p. 100.

5 octobre :

Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 5.640.000;
Leucocytes, 11.400;
Polyneutro, 82 p. 100;
Lympho, 17 p. 100;
Mono, 1 p. 100.

5 octobre : Incision médiane sur la face antérieure du cou. En raison de l'importance du pannicule adipeux, la dénudation des deux veines jugulaires est longue et difficile.

Nous commençons la saignée par la veine jugulaire droite et retirons lentement 400 cm³ de sang. L'animal présente alors une accélération brusque du rythme respiratoire, qui redevient rapidement normal après le passage de la position horizontale à celle de Trendelenburg.

Nous poursuivons lentement la saignée jusqu'à 900 cm³. L'animal, qui, en dehors de la saignée, a perdu du sang au cours de l'opération, est très abattu. Sa respiration est superficielle, son pouls extrêmement rapide. La décoloration des muqueuses est intense. Nous arrêtons la saignée.

Par la veine jugulaire gauche, nous procédons alors à l'injection d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 23 septembre 1935, et conservée depuis en ampoules scellées au frigidaire à + 4° C.

Cette solution, réchauffée dans un bain-marie à 40 degrés, est injectée très lentement avec une seringue de 100 cm³.

Dès le début de cette injection, la respiration, de superficielle, devient ample et très rythmée. Courte phase d'excitation. Nous injectons ainsi sans incidents 400 cm³ de solution, soit 28 grammes d'hémoglobine.

Chaque jugulaire est liée en deux endroits. Trois compresses sont bourrées dans la plaie. Fermeture aux crins. Pansement compressif. L'opération a duré trois heures.

L'animal, alors détaché et mis à terre, ne peut tout d'abord se mettre sur ses pattes. Il y parvient assez rapidement et se promène en titubant dans la salle d'opération. Il boit avec avidité un demi-litre d'eau environ.

A 14 heures, deux heures après l'opération, l'animal présente un aspect très abattu. Nous lui faisons alors une injection intramusculaire de 100 cm³ de la même solution d'oxyhémoglobine, ce qui porte à 35 grammes le poids de l'hémoglobine injectée. A 16 heures, l'état du chien s'améliore légèrement. Emission de selles

diarrhéiques. Emission de 50 cm³ d'urine hémoglobinurique de teinte rouge vif, contenant 2 g. 5 d'hémoglobine.

A 17 heures, l'amélioration s'accroît nettement. L'animal marche sans tituber. Température rectale, 36°5.

Des examens de sang pratiqués alors donnent les résultats suivants :

Hémoglobine, 70 p. 100;
Coagulation sur lame, 9 minutes;
Hématies, 2.187.000;
Leucocytes, 19.460;
Polyneutro, 95 p. 100;
Lympho, 2 p. 100;
Myélo, 3 p. 100;
Présence de quelques hématies nucléées.

6 octobre : A 10 heures du matin, nous trouvons le chien couché. Il paraît abattu et lève à peine la tête à notre arrivée. Il n'a pas touché à l'eau et au lait sucré mis à sa portée depuis la veille. Sa respiration a une amplitude normale et un rythme régulier. Température rectale, 38°5. L'animal a émis pendant la nuit 30 cm³ d'une urine hémoglobinurique couleur porto, contenant 1 g. 10 d'hémoglobine.

Hémoglobine, 70 p. 100;
Hématies, 2.770.000;
Leucocytes, 23.560;
Polyneutro, 91 p. 100;
Lympho, 4 p. 100;
Mono : 1 p. 100;
Myélo, 4 p. 100;
Présence de nombreuses hématies nucléées.

7 octobre : Amélioration sensible depuis la veille. Le chien marche. Son œil est vif; il nous accueille joyeusement.

L'animal a émis depuis la veille 400 cm³ d'une urine hémoglobinurique de teinte brune, contenant 1 g. 80 d'hémoglobine.

Pendant la journée, émission de 300 cm³ d'urine, de couleur verdâtre. Le dosage ne décèle aucune trace d'hémoglobine :

Hémoglobine, 75 p. 100;
Coagulation sur lame, 14 minutes;
Hématies, 3.069.000;
Leucocytes, 31.500;
Polyneutro, 89 p. 100;
Lympho, 1 p. 100;
Myélo, 10 p. 100.

Cet examen de sang est pratiqué en période digestive. Ce fait explique partiellement le nombre considérable de globules blancs.

8 octobre : L'état du chien est parfait.

La plaie du cou suppure. Pansement à la vaseline iodoformée.

Emission d'urines abondantes et normales.

Hémoglobine, 75 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 3.441.000;
Leucocytes, 29.680;
Polyneutro, 88 p. 100;
Baso, 1 p. 100;
Lympho, 6 p. 100;
Mono, 1 p. 100;
Myélo, 4 p. 100.

Présence de nombreuses hématies nucléées.

9 octobre : Examens pratiqués à jeun :

Urée sanguine, 0,22;
Hémoglobine, 75 p. 100;
Coagulation sur lame, 16 minutes;
Hématies, 3.600.000;
Leucocytes, 17.560;
Polyneutro, 89 p. 100;
Lympho, 5 p. 100;
Mono, 5 p. 100;
Myélo, 1 p. 100;
Présence de très nombreuses hématies nucléées.

10 octobre : Comme les deux jours précédents et jusqu'à la fin de nos observations, l'état de l'animal reste parfait.

Hémoglobine, 75 p. 100;
Hématies, 3.720.000;
Leucocytes, 15.800;
Polyneutro, 91 p. 100;
Lympho, 9 p. 100.

11 octobre :

Hémoglobine, 75 p. 100;
Hématies, 3.850.000;
Leucocytes, 15.250;
Polyneutro, 92 p. 100;
Lympho, 7 p. 100;
Mono, 1 p. 100.

12 octobre :

Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.930.000;
Leucocytes, 15.200;
Polyneutro, 86 p. 100;
Eosino, 3 p. 100;
Lympho, 9 p. 100;
Mono, 2 p. 100.

15 octobre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.491.000;
Leucocytes, 12.400;
Polyneutro, 68 p. 100;
Baso, 3 p. 100;
Lympho, 25 p. 100;
Mono, 2 p. 100;
Myélo, 2 p. 100;

Nombreuses hématies nucléées.

18 octobre :

Hémoglobine, 90 p. 100;

Hématies, 5.394.000;

Leucocytes, 11.780;

Polyneutro, 66 p. 100;

Lympho, 29 p. 100;

Mono, 3 p. 100;

Myelo, 2 p. 100;

Nombreuses hématies nucléées.

21 octobre :

Hémoglobine, 90 p. 100;

Hématies, 5.460.000;

Leucocytes, 11.480.

Cet animal a reçu 35 grammes d'hémoglobine. 5 g. 4 ont été éliminés par les urines.

Actuellement, ce chien est dans un état de santé excellent et il sert à d'autres recherches de médecine expérimentale.

CHIEN N° 8.

Poids : 15 kg. 500 (12 octobre 1935).

A 17 heures, l'animal, qui est âgé et semble peu résistant, est mis sur la table d'opération.

Incision médiane sur la face antérieure du cou. Recherche et dénudation des veines jugulaires, longues et difficiles, en raison de l'importance du pannicule adipeux.

A 17 h. 40, nous commençons la saignée. En vingt minutes, le volume de sang soustrait atteint 600 cm³. La respiration de l'animal devient difficile et rapide. Il s'arrête de gémir.

On prélève encore 175 cm³ de sang.

Nous arrêtons la saignée. Elle a été réalisée en trente minutes. Son volume total s'élève à 775 cm³, soit 50 grammes de sang par kilo d'animal.

Le chien ne réagit plus. Son œil est terne, ses pupilles dilatées. Sa respiration est superficielle et à rythme régulier. L'animal va mourir.

Par le bout proximal de la veine jugulaire gauche, on pousse rapidement une injection de 100 cm³ de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 10 octobre.

Dès le début de l'injection, la réaction de l'animal est semblable à celle des chiens précédents. Sa respiration devient plus ample, plus profonde et se régularise.

Au moment où nous allons pratiquer une seconde injection, le chien a soudain une syncope et meurt.

Nous pensons pouvoir expliquer cette mort par les causes suivantes :

1° Le volume de sang soustrait paraît trop important pour la résistance de l'animal;

2° La saignée a été beaucoup trop rapide. Elle n'a duré que trente minutes, alors que celle des chiens précédents était réalisée en deux heures environ;

3° L'injection de solution d'oxyhémoglobine a été poussée trop rapidement.

CHIEN N° 9.

Poids : 14 kilos (21 octobre 1935).

L'animal est vieux, maigre, et en mauvais état.

Glycémie avant la saignée : 1,02.

Après une saignée de plus de 650 cm³ réalisée en une heure, l'animal a une syncope et meurt avant d'avoir reçu l'injection de la solution d'oxyhémoglobine.

Glycémie après la saignée : 2,87.

Nous considérons ce chien comme animal témoin.

CHIEN N° 10.

Poids : 16 kg. 500 (25 octobre 1935).

L'animal paraît être en excellent état de santé.

Examens pratiqués à jeun dans les jours précédant l'opération :

25 octobre :

Urée sanguine, 0,22;
Hémoglobine, 95 p. 100;
Coagulation sur lame, 35 minutes;
Hématies, 5.828.000;
Leucocytes, 11.160;
Polyneutro, 83 p. 100;
Eosino, 2 p. 100;
Lympho, 11 p. 100;
Mono, 3 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

26 octobre :

Hémoglobine, 95 p. 100;
Coagulation sur lames, 36 minutes;
Hématies, 5.859.000;
Leucocytes, 12.400;
Polyneutro, 81 p. 100;
Eosino, 1 p. 100;
Lympho, 14 p. 100;
Mono, 4 p. 100.

28 octobre : Matin de l'opération :

Glycémie, 0,97;
Cholestérolémie, 1,55;
Urée sanguine, 0,21;
Coagulation sur lame, 36 minutes.

Sous courte anesthésie générale au chloroforme, on aborde et dénude rapidement les veines jugulaires. L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 heures, saignée de 230 cm³, réalisée en cinq minutes.

A 10 h. 30, saignée de 230 cm³, réalisée en cinq minutes.

A 10 h. 40, saignée de 130 cm³ réalisée en huit minutes.

L'animal, qui jusque-là a hurlé et s'est débattu, geint doucement, puis se calme.

Le volume de la déperdition sanguine atteint alors 590 cm³.

Du sang recueilli et examiné fournit les résultats suivants :

Glycémie, 2,26;

Cholestérolémie, 1,55;

Urée sanguine, 0,32.

A 11 heures, saignée de 160 cm³ réalisée en onze minutes. L'animal est alors dans un état d'abattement extrême. L'œil est terne, les extrémités froides, les muqueuses décolorées. La respiration est difficile, superficielle, le pouls incomptable.

Le chien est enveloppé dans une couverture et réchauffé par une bouillotte.

La saignée, dont le volume atteint 750 cm³, est arrêtée. On procède alors à l'injection d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 préparée le 10 octobre 1935.

Cette injection, réalisée très lentement par le bout proximal de la jugulaire droite, demande dix-sept minutes.

Une amélioration très sensible dans l'état de l'animal s'observe dès l'injection des premiers centimètres cubes de la solution. Les mouvements respiratoires deviennent amples et profonds; le chien se débat et bientôt aboie.

Au moment où l'injection atteint 200 cm³ la plaie saigne légèrement en nappe.

L'animal reçoit sans incident 350 cm³ de solution d'oxyhémoglobine, soit 24 g. 5 d'hémoglobine. On le ramène doucement à la position horizontale.

Ligature des jugulaires. Fermeture rapide de la plaie aux crins. L'opération a duré deux heures dix minutes.

Le chien, alors détaché et mis à terre, se dresse sur ses pattes et se promène dans la salle d'opération. Il titube légèrement.

Un peu de sang prélevé alors donne :

Glycémie, 2,76;

Coagulation sur lame, 5 minutes.

A 14 heures, l'animal, dont l'état est très satisfaisant, se dresse à notre arrivée et agite joyeusement la queue.

A 18 heures :

Hémoglobine, 80 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 3.007.000;
Leucocytes, 18.600;
Polyneutro, 97 p. 100;
Lympho, 1 p. 100;
Myélo, 2 p. 100;
Glycémie, 1,19.

L'animal mange avec appétit.

Il émet 170 cm³ d'une urine rouge noirâtre contenant 4 g. 80 d'hémoglobine.

29 octobre : Le chien est joyeux; son état est excellent.

Pendant la nuit, l'animal a émis 300 cm³ d'urine porte qui contient 0 g. 96 d'hémoglobine.

L'état de la plaie est parfait.

Hémoglobine, 80 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 3.720.000;
Leucocytes, 22.040;
Polyneutro, 91 p. 100;
Lympho, 8 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.
Assez nombreuses hématies nucléées.

30 octobre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 17 minutes;
Hématies, 4.030.000;
Leucocytes, 15.020;
Polyneutro, 88 p. 100;
Lympho, 7 p. 100;
Mono, 4 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.
Présence de nombreuses hématies nucléées.

L'animal émet 300 cm³ d'urine de couleur normale ne contenant plus d'hémoglobine. La recherche de l'albumine se révèle négative.

31 octobre :

Urée sanguine, 0,24;
Glycémie, 1,12;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.371.000;
Leucocytes, 11.680;
Polyneutro, 82 p. 100;
Lympho, 18 p. 100.
Présence de quelques hématies nucléées.

1^{er} novembre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 19 minutes;
Hématies, 4.581.000;
Leucocytes, 12.400;
Polyneutro, 87 p. 100;
Lympho, 11 p. 100;
Myélo, 2 p. 100;
Présence de nombreuses hématies nucléées.

2 novembre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.653.000;
Leucocytes, 13.850;
Polyneutro, 88 p. 100;
Lympho, 6 p. 100;
Mono, 3 p. 100;
Myélo, 3 p. 100;
Présence de nombreuses hématies nucléées.

4 novembre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.960.000;
Leucocytes, 13.480.

6 novembre :

Hémoglobine, 90 p. 100;

Hématies, 5.394.000.

8 novembre :

Hémoglobine, 90 p. 100;

Hématies, 5.644.000.

L'animal est en parfait état. Nous le considérons comme redevenu normal et abandonnons tous les examens.

La quantité d'hémoglobine reçue par l'organisme a été de 24 g. 5. La quantité d'hémoglobine éliminée par les urines a été de 5 g. 76.

Conclusions sur l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine à 7 p. 100.

Des observations détaillées de ces animaux, transfusés, après saignée, avec des solutions d'oxyhémoglobine à 7 p. 100, nous allons maintenant déduire quelques considérations sur le comportement des chiens pendant et après l'injection et sur les divers examens de laboratoire qui ont été réalisés.

1° COMPORTEMENT DE L'ANIMAL AU COURS DE LA TRANSFUSION. — A la fin de la saignée d'environ 50 grammes par kilo. d'animal, la majorité des chiens sont, nous l'avons vu précédemment, dans un état d'abattement extrême. Après avoir traversé une phase d'excitation intense, ils sont prostrés, inertes; leur état est semi-comateux. Leur respiration est pénible, superficielle, irrégulière. Leur pouls est très rapide, souvent incomptable, et sujet parfois à des intermittences. Les extrémités sont refroidies.

Dans chacune de nos expériences, nous avons été frappé, dès l'injection des premiers centimètres cubes de la solution d'oxyhémoglobine, par la modification des mouvements respi-

ratoires qui, sous l'influence de l'apport lent et progressif de l'oxygène, s'amplifient notablement, se régularisent et reprennent vite un rythme normal.

Peu à peu, au cours de l'injection, l'animal sort de sa torpeur. Il s'agite, se débat et aboie. Le plus souvent, un aide est nécessaire pour le maintenir pendant la fermeture de la plaie.

Détaché et mis à terre, le chien peut, en général, se dresser immédiatement sur ses pattes. Mais il titube, heurte les murs et les meubles, paraissant, d'ailleurs, surtout gêné dans ses mouvements des pattes postérieures. Il est vraisemblable que l'ischémie passagère qu'entraîne la position de Trendelenburg pendant deux heures, chez un animal saigné de façon aussi importante, est responsable pour la plus grande part de cette légère parésie, de courte durée, du train postérieur.

En dehors de ces phénomènes, le comportement des chiens, à la suite de ces injections de solutions d'oxyhémoglobine hétérogène, est absolument normal. Nous n'avons jamais noté ni tremblement, ni frisson, ni aucun phénomène de choc.

2° RÉGÉNÉRATION GLOBULAIRE. — Après une saignée d'environ 50 grammes par kilo d'animal, suivie d'une injection de 300 à 400 cm³ de solution d'oxyhémoglobine à 7 p. 100, le chiffre des hématies, qui, normalement, oscille chez le chien entre 5.500.000 et 6.500.000, se trouve en général abaissé de moitié.

Le soir même de l'opération, et chaque jour jusqu'à ce que l'animal ait recouvré un taux normal d'hématies, nous avons pratiqué des numérations globulaires, à l'aide de l'hématimètre de Hayem et du liquide de Marciano additionné de bleu de méthylène. Le nombre d'hématies a augmenté quotidiennement et régulièrement. Les animaux en ont recouvré le taux normal, dans un laps de temps minimum de dix jours et maximum de dix-sept jours. Or, d'après Jolly, chez un animal non traité, une perte globulaire de 40 p. 100 n'est réparée qu'après quatre semaines.

Comment peut-on expliquer cette réparation intense des globules rouges ? Selon Delaunay, « la régénération globulaire est beaucoup plus difficile dans les anémies par hémorragie, par suite de la perte totale des hématies, que dans les anémies toxiques, au cours desquelles le matériel provenant des hématies détruites est en partie réutilisé pour la formation d'hématies nouvelles. Les bons effets de la transfusion du sang ont pour cause, non seulement l'apport d'hématies immédiatement utilisables pour le transport de O_2 et CO_2 , mais aussi plus tardivement, lorsque les hématies sont détruites, l'apport de matériel servant à la formation de nouvelles hématies. »

Les solutions d'oxyhémoglobine réalisent donc, elles aussi, un apport de O_2 et CO_2 , qui permet à l'organisme de survivre pendant le temps nécessaire à la mise en jeu de ses réserves.

Elles offrent également un apport de matériel immédiatement utilisable pour la formation d'hématies nouvelles.

Il est vraisemblable de penser que, sous l'action de ces divers facteurs, les organes hématopoïétiques fonctionnent à plein rendement. L'absence de chute leucocytaire tend d'ailleurs à le prouver. Erlich et Lazarus signalent, en effet, que la leucocytose posthémorragique est l'indice de l'effort réparateur des organes hématopoïétiques.

Cet effort réparateur de l'organisme, nous l'avons également constaté en établissant chaque jour une formule leucocytaire. Celle-ci nous a permis de constater la présence d'hématies nucléées abondantes et de formes jeunes de globules blancs telles que les myélocytes.

3° VARIATIONS DU TAUX DE L'HÉMOGLOBINE. — Dans les premières heures qui suivent la transfusion d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, le taux de l'hémoglobine est maintenu élevé par apport massif de ce pigment dans la circulation. Il est donc aisé de comprendre que, malgré une saignée très importante, les variations du taux de l'hémoglobine soient peu appréciables. Dans les jours qui suivent,

l'hémoglobine en dissolution dans le plasma est éliminée, mais la disparition de ce pigment est compensée par la régénération globulaire. Les lectures à l'échelle de Tallqvist sont peu modifiées.

4° VARIATIONS DE LA GLYCÉMIE ET DU TEMPS DE COAGULATION DU SANG. — Le taux de la glycémie, nous l'avons constaté sur le chien n° 9 et les suivants, augmente après la saignée dans de notables proportions. Cette hyperglycémie est normale. D'après Delaunay, en effet, « l'hyperglycémie découverte par Claude Bernard est régulière lorsque la perte de sang dépasse 1 p. 100 du poids du corps. Elle apparaît très vite et persiste pendant quelque temps. Elle est due, d'après Schenck, à la mobilisation du glycogène hépatique, car si on isole le foie de la circulation, elle ne se produit pas ».

Cette hyperglycémie est d'ailleurs très transitoire et ne dure que quelques heures.

Chez nos chiens saignés et traités par des injections d'hémoglobine, le taux de la glycémie ne s'est pas comporté différemment que chez les chiens simplement saignés. L'hyperglycémie ne fut ni plus forte, ni plus prolongée; et le lendemain de l'expérience, chez l'animal à jeun, le taux du sucre du sang s'est montré normal. Ceci prouve que, contrairement à ce que pense Monasterio, l'hémoglobine, même en injections massives, n'a pas troublé l'insulinémie physiologique.

En même temps, qu'il décharge du glucose dans le sang après la saignée, il semble que le foie décharge également de la fibrine, car nous avons souvent observé, aussitôt après l'hémorragie, une diminution appréciable du temps de coagulation.

5° ETUDE DE LA CHOLESTÉROLÉMIE. — Nous n'avons jamais constaté de modification du taux de la cholestérolémie dans les jours suivant la saignée.

6° ETUDE DE L'HÉMOGLOBINURIE. — La première miction a lieu généralement très peu de temps après la transfusion d'oxyhémoglobine à 7 p. 100. Les urines sont d'emblée hémoglobinuriques et ont une teinte rouge sombre. Vingt-quatre heures après l'injection, elles prennent une teinte porto pour redevenir normales quarante-huit heures en général après la transfusion. L'examen des urines de nos chiens nous a permis de constater que l'élimination rénale de l'hémoglobine atteignait, à la suite de l'injection de ces solutions à 7 p. 100, le sixième environ de l'hémoglobine injectée. Mais il est très difficile de déterminer exactement la quantité réelle d'hémoglobine éliminée par l'organisme. Matsumara signale, en effet, que l'hémoglobinurie n'est pas la seule voie d'élimination de l'hémoglobine. Selon cet auteur, l'hémoglobine injectée dans le torrent circulatoire serait aussi éliminée par l'intestin.

Nous avons fait, au sujet de ces hémoglobinuries, de nombreuses recherches bibliographiques. Nous nous sommes particulièrement arrêté sur les importants travaux que Wipple et ses collaborateurs publient depuis 1922. A la suite de nombreuses séries d'expériences, ces auteurs estiment que, chez le chien, la valeur du seuil rénal pour l'hémoglobine du sang de chien est de 245 milligrammes par kilo net d'animal. Ils obtiennent des résultats à peu près analogues à la suite d'injections d'hémoglobine étrangère.

Les hémoglobinuries de nos animaux étaient donc inévitables, puisque nous avons largement dépassé le seuil rénal d'excrétion de l'hémoglobine.

Au moment de son injection, l'hémoglobine réalise dans un organisme appauvri l'apport d'oxygène nécessaire à la survie et d'un matériel neuf pour la formation de nouvelles hématies. Les déchets de ce pigment sont rapidement éliminés par le rein. Avec l'emploi de solution à 7 p. 100, nous n'avons jamais constaté de complications rénales, malgré cette élimination assez intense et rapide de l'hémoglobine. Les urines ont toujours été émises en quantités nor-

males, et leur examen, pratiqué après la guérison de nos animaux, n'a révélé la présence d'aucun élément pathologique.

Pendant les jours qui ont suivi la transfusion, nous n'avons jamais noté d'élévation du taux de l'urée sanguine. Tout au plus en avons-nous constaté une élévation minime et passagère immédiatement après la saignée. Ce phénomène est d'ailleurs normal. Taylor et Lewis signalent, en effet, dans le sang des chiens fortement saignés, une élévation de l'azote non protéique total, portant sur l'azote aminé et sur l'azote uréique.

En résumé, l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, fraîches ou conservées au frigidaire à + 4° C, nous a toujours donné d'excellents résultats. Sous leur action, nos animaux ont pu, non seulement survivre à une déperdition sanguine égale en général au 1/20 du poids du corps, mais encore se rétablir rapidement et recouvrer en peu de jours un taux normal d'hématies. Nous n'avons jamais constaté, malgré la présence d'une hémoglobinurie physiologique, l'existence de lésions rénales immédiates ou éloignées.

CHAPITRE VII

EXPERIENCES DE CONTROLE REALISEES AVEC DU SERUM PHYSIOLOGIQUE à 9 p. 1.000

Des expériences de contrôle ont été pratiquées sur trois chiens.

Nous avons remplacé chez ces animaux, opérés et saignés dans les mêmes conditions que les précédents, l'injection de solution d'oxyhémoglobine par une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000, de volume proportionnel à l'importance de la déperdition sanguine.

CHIEN N° 12.

Poids : 19 kg. 300 (1^{er} novembre 1935). Animal en bonne santé apparente.

Nous nous proposons de réaliser sur ce chien une saignée proportionnellement équivalente à celle subie par les animaux des expériences précédentes et de remplacer l'injection de solution d'oxyhémoglobine par une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000.

Examens pratiqués avant l'opération :

1^{er} novembre :

Hémoglobine, 95 p. 100;

Coagulation sur lame, 12 minutes;

Hématies, 6.076.000;

Leucocytes, 9.300.

2 novembre :

Hémoglobine, 95 p. 100;
Coagulation sur lame, 11 minutes;
Hématies, 6.014.000;
Leucocytes, 8.680.

2 novembre : Les veines jugulaires sont dénudées sous courte anesthésie générale au chloroforme.

L'animal est en position horizontale.

A 10 h. 5, saignée de 310 cm³ réalisée en cinq minutes.

L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 h. 35, saignée de 230 cm³ en cinq minutes.

A 10 h. 50, nous reprenons la saignée et prélevons encore 160 cm³. Bien qu'ayant perdu seulement 700 cm³ de sang (36 g. par kilo), le chien cesse de respirer.

Nous arrêtons immédiatement la saignée.

L'animal est froid, ses yeux sont révulsés, il a déféqué.

On commence aussitôt la respiration artificielle, mais, dès qu'on la cesse, on s'aperçoit que l'animal ne respire toujours pas de lui-même. Le cœur continuant cependant à battre avec une tachycardie intense, on procède alors, par le bout proximal de la jugulaire gauche, à une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000.

La respiration artificielle continue à être pratiquée pendant cette injection.

Lorsque l'animal a reçu 200 cm³, quelques mouvements respiratoires spontanés s'ébauchent. Puis, peu à peu, se rétablit une respiration superficielle pénible.

400 cm³ de sérum physiologique sont ainsi injectés sans que le rythme respiratoire devienne plus ample. Bientôt, il semble, au contraire, diminuer d'intensité. Le pouls est incomptable. L'œil est fixe et hagard, les muqueuses décolorées. L'animal présente des mouvements d'extension des pattes, avec contractures. On a l'impression qu'il va mourir.

Devant l'échec manifeste de l'injection de sérum, nous décidons alors de tenter une transfusion avec une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, préparée le 10 octobre et conservée depuis

en ampoules scellées au frigidaire à + 4° C. Nous l'injectons par le bout proximal de la jugulaire gauche après l'avoir rapidement réchauffée dans un bain-marie à 40 degrés.

Dès les premiers centimètres cubes de l'injection, les mouvements respiratoires s'amplifient. Lorsque 100 cm³ sont reçus, ces mouvements deviennent peu à peu normaux, amples et réguliers.

L'animal reçoit en tout 375 cm³ de solution, soit environ 26 g. 50 d'hémoglobine.

A la fin de l'injection, le chien est toujours dans un état de prostration extrême. Mais sa respiration est maintenant normale; ses muqueuses se recolorent. Le pouls est à 186.

Nous pratiquons alors une injection sous-cutanée de 5 cm³ d'huile camphrée et de 1 milligramme de sulfate de strychnine.

Fermeture rapide de la plaie aux crins. L'opération a duré deux heures dix minutes.

L'animal est mis à terre. Il demeure inerte. L'œil est fixe, hagard, mais les paupières esquissent quelques mouvements si l'on approche le doigt.

La respiration est brève, mais à rythme normal (20 mouvements à la minute); elle est entrecoupée de nombreux mouvements de contracture au niveau du diaphragme et des muscles abdominaux, comme s'il s'agissait d'efforts de défécation. Peu à peu, cependant, l'animal répond aux appels de la voix. Son état semble s'améliorer nettement. Il lève la tête, boit un peu d'eau, et finalement, vers 12 h. 30, se dresse sur ses pattes. Quelques minutes après, il marche en titubant dans la salle d'opération et boit avec avidité.

Un examen de sang pratiqué alors donne :

Hémoglobine, 80 p. 100;

Coagulation sur lame, 25 minutes;

Hématies, 2.511.000.

A 13 h. 45, le chien circule très normalement et se désaltère. Il paraît hors d'affaire.

A 14 h. 30, nous le retrouvons étendu à terre, glacé et ne respirant plus. Il a quelques mouvements d'extension des pattes avec contractures et meurt peu d'instant après notre arrivée.

A l'autopsie (17 heures) : L'estomac est très dilaté, rempli du liquide absorbé depuis l'opération.

Pas de thrombose au niveau des veines ponctionnées.

Pas de caillots dans les cavités cardiaques.

Présence dans la vessie d'urine claire, non hémoglobinurique.

Après une résurrection inespérée, due à l'injection de solution d'hémoglobine, la mort est survenue par un mécanisme qui nous échappe.

CHIEN N° 16.

Poids : 15 kg. 100 (12 novembre 1935). L'animal, jeune et très vigoureux, paraît être en excellente santé.

Nous nous proposons de remplacer chez cet animal, après saignée, l'injection de solution d'oxyhémoglobine par une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000.

Examens pratiqués avant l'opération :

Urée sanguine, 0,25;

Hémoglobine, 95 p. 100;

Coagulation sur lame, 17 minutes;

Hématies, 6.059.000;

Leucocytes, 9.500;

Polyneutro, 71 p. 100;

Eosino, 2 p. 100;

Baso, 1 p. 100;

Lympho, 24 p. 100;

Mono, 2 p. 100.

12 novembre : Sous courte anesthésie générale au chloroforme, dénudation rapide des veines jugulaires.

A ce moment : respiration, 28 à la minute; pouls, 110.

A 9 h. 55, saignée de 230 cm³ réalisée en cinq minutes.

L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 h. 25, saignée de 210 cm³ en cinq minutes.

A 10 h. 50, saignée de 160 cm³ en huit minutes.

Le volume de la déperdition sanguine atteint 600 cm³.

L'animal réagit, se débat et hurle.

Respiration, 60 à la minute; pouls, 204.

A 11 h. 5, saignée de 100 cm³ en six minutes.

Malgré cette saignée totale de 700 cm³, le chien n'est nullement prostré. Il continue à se débattre violemment. Ses muqueuses sont encore assez colorées. Sa respiration, quoique rapide (60 à la minute), est facile.

Pouls, 240; température rectale, 36° C.

L'état de cet animal, exceptionnellement vigoureux, ne paraît pas alarmant. Cependant, nous arrêtons la saignée pour nous placer dans les mêmes conditions que pour les chiens précédents.

Par le bout proximal de la jugulaire gauche, l'animal reçoit, en douze minutes, 300 cm³ de sérum physiologique à 9 p. 1.000, préalablement réchauffé dans un bain-marie à 40 degrés.

Cette injection, effectuée sans incidents, n'apporte aucune modification à l'état de l'animal. Ce dernier continue à s'agiter énergiquement.

Sa respiration est de 60 à la minute. Pouls, 200.

L'animal est ramené doucement en position horizontale.

Fermeture rapide de la plaie aux crins.

Détaché et mis à terre, le chien ne peut tout d'abord se dresser sur ses pattes. Il y parvient au bout d'un moment. Il boit avec avidité. Sa respiration est de 24 à la minute. Pouls, 240.

Dans l'après-midi, le chien, qui semble très déprimé, reste couché. Il boit abondamment.

A 18 heures :

Hémoglobine, 95 p. 100;

Coagulation sur lame, 8 minutes;

Hématies, 4.500.000;

Leucocytes, 14.880;

Polyneutro, 94 p. 100;

Lympho, 1 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 3 p. 100.

13 novembre : L'animal paraît très abattu et demeure étendu. Il boit avec avidité. Les urines sont émises en volume normal.

Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 5 minutes;
Hématies, 4.588.000;
Leucocytes, 17.360;
Polynéutro, 90 p. 100;
Lympho, 6 p. 100;
Mono, 2 p. 100;
Myélo, 2 p. 100;
Présence de nombreuses hématies nucléées.

A 18 heures, le chien paraît encore plus déprimé que dans la journée. On note à ce moment :

Respiration, 16 à la minute;
Pouls, 180;
Température rectale, 35°5.

14 novembre : L'animal est extrêmement abattu et ne mange presque pas.

Urée sanguine, 0,18;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.030.000;
Leucocytes, 18.600;
Polynéutro, 86 p. 100;
Lympho, 11 p. 100;
Mono, 2 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

15 novembre : L'animal, qui a beaucoup maigri, est toujours très abattu. Il demeure étendu toute la journée.

Respiration, 12 à la minute; pouls, 130.

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 4 minutes;
Hématies, 4.370.000;
Leucocytes, 14.620.

17 novembre : L'animal est toujours faible. Il reste continuellement couché, mais mange avec appétit.

Urée sanguine, 0,21;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.844.000;
Leucocytes, 16.120.

19 novembre : Amélioration sensible dans l'état de l'animal, qui, bien que passant encore couché la majeure partie de la journée, mange avec appétit et semble regrossir un peu.

Légère suppuration de la plaie du cou.

Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.813.000;
Leucocytes, 14.860.

21 novembre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.030.000;
Leucocytes, 13.440.

En résumé, il résulte de cette observation que ce chien, qui avait paru supporter très bien au moment de la saignée une déperdition sanguine qui eût été mortelle pour d'autres animaux, a montré dans les jours et les heures qui suivirent un état de choc que nous n'avons pas observé chez les chiens saignés et traités par les injections de solutions d'hémoglobine. De toute évidence, l'injection de sérum de Hayem n'a pas remplacé l'action de ces dernières. De plus, il est à noter que, bien que la saignée de 700 cm³ n'ait produit qu'une chute des globules rouges de 6.000.000 à 4.500.000, le taux de ces hématies ne s'est pas élevé dans les dix jours qui ont suivi, contrairement à ce qui s'est passé chez nos animaux traités par des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100.

CHIEN N° 17.

Poids : 16 kg. 400 (16 novembre 1935). L'animal, jeune et vigoureux, paraît être en très bonne santé.

Dans cette expérience, comme pour les chiens n° 12 et n° 16, l'injection de solution d'oxyhémoglobine est remplacée après la saignée par une injection de sérum physiologique à 9 p. 100.

Examens pratiqués à jeun avant la saignée :

Hémoglobine, 100 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 6.800.000;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Leucocytes, 11.950.

Sous courte anesthésie générale au chloroforme, les veines jugulaires sont rapidement mises à nu.

Nous notons, avant de commencer la saignée :

Respiration, 24 à la minute;
Pouls, 120;
Température rectale, 39°5.

A 10 h. 5, saignée de 240 cm³, effectuée en quatre minutes. L'animal est mis alors en position de Trendelenburg.

A 10 h. 25, saignée de 240 cm³ en cinq minutes.

Le chien traverse une période d'excitation intense pendant laquelle il se débat et hurle.

A 10 h. 45, saignée de 180 cm³ en cinq minutes.

Le chien présente une phase d'abattement extrême. Il demeure inerte et ne gémit plus.

Sa respiration est de 80 à la minute. Pouls à 230.

A 11 h. 10, saignée de 20 cm³. L'état de l'animal est alarmant et ne nous autorise pas à pousser plus avant la déperdition sanguine, qui est, de ce fait, légèrement inférieure à celles réalisées sur les animaux précédents.

Le volume total de la saignée s'élève à 680 cm³.

Nous procédons alors, par le bout proximal de la jugulaire droite, à une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000 préalablement réchauffé dans un bain-marie à 40 degrés.

L'animal reçoit, en quinze minutes, 300 cm³ de ce liquide. Aucune amélioration ne survient dans son état. Nous arrêtons cependant l'injection pour nous placer dans des conditions semblables à celles des chiens précédents.

L'animal est ramené doucement en position horizontale.

A ce moment, on note :

Respiration, 20 à la minute;

Pouls, 240;

Température rectale, 40°.

La jugulaire de ponction est liée en deux endroits. Fermeture rapide de la plaie aux crins.

Détaché et mis à terre, l'animal demeure affalé, inerte, les pattes écartées en position de grenouille. Sa respiration est de 38 à la minute. Pouls, 170.

A 12 heures, dix minutes après la fin de l'opération, nous pratiquons les examens suivants :

Hémoglobine, 75 p. 100;

Coagulation sur lame, 25 minutes;

Hématies, 3.720.000.

A 14 heures, nous retrouvons l'animal mort, exactement dans la même position que celle où nous l'avions laissé.

Conclusions sur l'emploi du sérum physiologique à 9 p. 1.000.

Deux décès sur trois chiens opérés ont été enregistrés.

L'injection de sérum physiologique n'a apporté aucune amélioration à l'état du chien n° 12, qui présentait des symptômes alarmants après une saignée encore éloignée du seuil mortel. Une injection de solution d'oxyhémoglobine réalisée *in extremis* chez cet animal lui a permis de survivre pendant quelques heures.

Le chien n° 17, transfusé à l'aide de sérum physiologique à 9 p. 1.000, après une saignée très éloignée encore du seuil mortel, est mort deux heures après l'opération sans avoir réagi.

Un seul chien (n° 16), animal d'une vigueur exceptionnelle, a survécu à la saignée, qui, de prime abord, ne paraissait pas l'avoir beaucoup affecté. Mais l'observation ultérieure de ce chien nous a montré qu'il avait été en réalité profondément shocké et que l'injection compensatrice de sérum physiologique à 9 p. 1.000 n'avait pas eu l'effet régénérateur habituellement observé après l'injection de solution d'hémoglobine.

D'une manière générale, chez les trois chiens les mouvements respiratoires ne nous ont paru que fort peu modifiés sous l'action du sérum physiologique à 9 p. 1.000. Ils sont demeurés rapides et superficiels, alors que sous l'influence d'une injection de solution d'hémoglobine, ils se ralentissent et s'amplifient très vite.

Chez le survivant, des numérations globulaires quotidiennes nous ont permis de constater que le taux des hématies est resté stationnaire pendant les dix jours qui ont suivi l'injection.

En résumé, ces expériences de contrôles semblent bien prouver que les solutions d'oxyhémoglobine n'agissent pas uniquement par l'apport d'une masse liquide à l'organisme.

Leur effet, beaucoup plus complet et durable, s'explique par l'action immédiate de l'oxyhémoglobine, à la fois vecteur d'oxygène et élément indispensable à une régénération globulaire intense et rapide.

CHAPITRE VIII

EXPERIENCES REALISEES AVEC DES SOLUTIONS D'OXYHEMOGLOBINE HETEROGENE à 3,5 p. 100

L'emploi de solutions d'oxyhémoglobine à 7 p. 100 nous avait donné d'excellents résultats. Il nous a paru cependant intéressant de réaliser d'autres expériences à l'aide de solutions de concentrations différentes.

Nous envisagerons dans ce chapitre les résultats obtenus à la suite de transfusions avec des solutions à 3,5 p. 100. Notre expérimentation a porté sur deux chiens dont voici les observations détaillées.

CHIEN N° 11.

Poids : 10 kg. 500 (31 octobre 1935). L'animal, âgé et paraissant peu résistant, présente un coryza aigu avec écoulement nasal très abondant de muco-pus.

Nous nous proposons de réaliser sur cet animal, après saignée, une transfusion de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, solution dont la concentration est moitié moindre que celle employée dans les expériences précédentes.

Examens pratiqués à jeun avant l'opération :

- Urée sanguine, 0,21;
- Hémoglobine, 95 p. 100;
- Coagulation sur lame, 17 minutes;
- Hématies, 5.766.000;
- Leucocytes, 13.640;
- Polyneutro, 81 p. 100;

Eosino, 1 p. 100;
Lympho, 16 p. 100;
Mono, 2 p. 100.

Les veines jugulaires sont rapidement dénudées sous courte anesthésie générale au chloroforme. L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 17 h. 10, saignée de 180 cm³ effectuée en cinq minutes.

A 17 h. 40, saignée de 170 cm³ en cinq minutes.

L'animal présente alors un rythme respiratoire de 55 à la minute. Pouls, 120.

A 18 heures, saignée de 120 cm³ en vingt minutes.

Le volume de la déperdition sanguine atteint 470 cm³. L'animal est très abattu. Sa respiration est superficielle et difficile; ses muqueuses sont décolorées; ses extrémités froides. Son état est très alarmant. La saignée est arrêtée.

L'animal reçoit alors, par le bout proximal de la jugulaire gauche, 225 cm³ d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 (préparée le 10 octobre et conservée depuis en ampoules scellées au frigidaire à + 4° C.), soit environ 7 g. 87 d'hémoglobine. La durée de l'injection est de onze minutes. Au cours de celle-ci, le chien s'agite légèrement. Sa respiration devient plus ample, plus facile. Il n'aboie pas. La réaction, que nous observons, est, bien que sensible, moins nette que celle des animaux transfusés avec une solution d'oxyhémoglobine à 7 p. 100.

Ligature des jugulaires. Fermeture de la plaie aux crins.

Détaché et mis à terre, l'animal se met immédiatement sur ses pattes. Il ne présente pas de phase de titubation.

Une heure après l'opération, nous pratiquons les examens suivants :

Hémoglobine, 80 p. 100;
Coagulation sur lame, 20 minutes;
Hématies, 3.131.000;
Leucocytes, 10.340;
Polyneutro, 61 p. 100;

Lympho, 30 p. 100;

Mono, 6 p. 100;

Myélo, 3 p. 100.

1^{er} novembre : L'animal paraît faible. Son état est néanmoins assez satisfaisant. Il n'a pas uriné.

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 11 minutes;

Hématies, 3.379.000;

Leucocytes, 20.880;

Polyneutro, 85 p. 100;

Lympho, 16 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 2 p. 100.

Présence de très nombreuses hématies nucléées.

2 novembre : Le chien émet, vers 14 heures, 100 cm³ d'une urine de teinte presque normale paraissant ne contenir que des traces d'hémoglobine. Par suite d'une erreur, cette urine n'a pas été recueillie en vue d'examens.

Bon état de la plaie. L'animal va bien et mange avec appétit.

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 10 minutes;

Hématies, 3.770.000;

Leucocytes, 20.460;

Polyneutro, 80 p. 100;

Lympho, 16 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 2 p. 100.

Présence de très nombreuses hématies nucléées.

3 novembre : La plaie suppure légèrement; l'animal ne mange pas. Il n'a pas uriné depuis la veille et reçoit en injections sous-cutanées 200 cm³ de sérum glucosé à 5 p. 100.

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 10 minutes;

Hématies, 3.851.000;
Leucocytes, 18.540;
Polynéutro, 79 p. 100;
Lympho, 16 p. 100;
Mono, 5 p. 100.

Présence de nombreuses hématies nucléées.

4 novembre : L'animal, qui n'a toujours pas uriné, reçoit dans la matinée 200 cm³ de sérum glucosé à 5 p. 100 en injections sous-cutanées. Il refuse toute nourriture et toute boisson.

Urée sanguine, 0,70;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 12 minutes;
Hématies, 4.030.000;
Leucocytes, 17.360;
Polynéutro, 68 p. 100;
Eosino, 2 p. 100;
Lympho, 28 p. 100;
Mono, 2 p. 100.

Présence de nombreuses hématies nucléées, mégalo-blastes surtout.

5 novembre : Dans la matinée, nous faisons à l'animal, qui n'urine toujours pas, une injection sous-cutanée de 200 cm³ de sérum glucosé à 5 p. 100.

Vers 13 heures, émission de 100 cm³ d'urine claire, ne contenant pas d'hémoglobine.

Le chien mange avec appétit.

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 13 minutes;
Hématies, 4.265.000;
Leucocytes, 16.880.

6 novembre : Depuis la veille, l'animal n'a pas uriné. Il reçoit à nouveau 200 cm³ de sérum glucosé à 5 p. 100 en injection sous-cutanée.

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.130.000;
Leucocytes, 24.800;
Polyneutro, 92 p. 100;
Eosino, 1 p. 100;
Lympho, 6 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

7 novembre :

Urée sanguine, 0,80;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.800.000;
Leucocytes, 31.000.

L'animal n'urine toujours pas; son état est peu satisfaisant. On décide de le sacrifier pour soumettre ses principaux organes à des examens histologiques.

A l'autopsie : Les reins sont congestionnés; la rate et la vésicule biliaire paraissent légèrement augmentées de volume. Foie et poumons normaux en apparence.

La vessie contient 20 cm³ d'urine trouble que l'on recueille en vue d'examens. Ceux-ci montrent :

Albumine, 0,30;
Présence d'indol.

A l'examen microscopique, on constate la présence de débris épithéliaux assez abondants et de quelques cristaux d'urates de sodium. Ni cylindres ni hématies.

Nous relaterons l'examen histologique des organes au chapitre X.

En résumé, cet animal, qui a bien réagi à l'injection de solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, quoique d'une manière moins évidente que les animaux ayant subi l'injection de solutions d'hémoglobine à 7 p. 100, a présenté les jours suivants un état d'anurie à peu près complet. Le nombre des hématies, qui s'était légèrement accru pendant les cinq jours

suivant l'intervention, s'est abaissé par la suite à mesure que les phénomènes d'urémie s'accroissaient.

CHIEN N° 13.

Poids : 20 kg. 500 (5 novembre 1935). L'animal, jeune et vigoureux, paraît être en bonne santé.

Nous nous proposons de réaliser sur cet animal, après saignée, une transfusion de solution d'oxyhémoglobine à 3,5 p. 100. Les conditions sont donc les mêmes que pour le chien n° 11.

Examens pratiqués à jeun avant l'opération :

Urée sanguine, 0,24;
Glycémie, 1,07;
Cholestérolémie, 1,55;
Hémoglobine, 95 p. 100;
Coagulation sur lame, 14 minutes;
Hématies, 6.050.000;
Leucocytes, 10.860;
Polyneutro, 69 p. 100;
Eosino, 1 p. 100;
Lympho, 23 p. 100;
Mono, 7 p. 100.

6 novembre : Dénudation rapide des veines jugulaires sous courte anesthésie générale au chloroforme.

L'animal est en position horizontale.

A 10 heures, saignée de 270 cm³ réalisée en cinq minutes.

L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 h. 25, saigné de 210 cm³ en cinq minutes.

Le chien réagit et se débat violemment.

A 10 h. 45, saignée de 180 cm³ en sept minutes.

Le volume de la déperdition sanguine atteint alors 660 cm³.

L'animal ne gémit plus. Sa respiration devient courte et rapide.

A 11 h. 10, saignée de 60 cm³.

A 11 h. 20, saignée de 280 cm³ en sept minutes.

L'animal a perdu exactement 1.000 cm³ de sang, soit une

moyenne de 50 grammes par kilo. Il est alors profondément abattu, ses muqueuses sont décolorées, ses extrémités froides. Les mouvements respiratoires (48 à la minute) sont pénibles et superficiels.

Le pouls est incomptable. Température rectale, 34° C. L'animal défèque.

Nous procédons alors, par le bout proximal de la jugulaire droite, à l'injection de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 3,5 p. 100. Lorsque l'animal a reçu 90 cm³, sa respiration s'accélère et devient plus ample. Le pouls tombe à 140.

Nous observons cependant une réaction moins caractéristique et moins intense que celle obtenue au courant de l'injection de soluble à concentration double. Le chien demeure immobile et n'aboie pas.

On injecte ainsi, en dix-sept minutes, 400 cm³ de solution, soit environ 14 grammes d'hémoglobine.

Fermeture rapide de la plaie aux crins. Pansement compressif. L'opération a duré deux heures quinze minutes.

Alors que les chiens précédents marchaient et présentaient une phase passagère d'excitation, cet animal, détaché et mis à terre, ne peut se dresser sur ses pattes et paraît très abattu. Il boit avec avidité. Sa respiration est normale et à rythme régulier : 24 à la minute. Pouls, 184.

Examens pratiqués après la transfusion :

Glycémie, 1,88;
Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 12 minutes;
Hématies, 3.995.000;
Leucocytes, 11.300;
Polyneutro, 70 p. 100;
Lympho, 25 p. 100;
Mono, 4 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

A 18 heures, l'animal paraît assez bien, mais il est faible, et, à part de rares instants, demeure couché; il n'a pas uriné.

7 novembre : Le chien, bien que toujours faible, est en état

assez satisfaisant. Il n'a pas encore uriné, alors que les chiens transfusés avec une solution d'hémoglobine à 7 p. 100 urinaient dix-huit heures au maximum après l'opération.

Urée sanguine, 1,15;

Cholestérolémie, 1,32;

Glycémie, 1,10;

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 12 minutes;

Hématies, 4.030.000;

Leucocytes, 24.800;

Polynentro, 71 p. 100;

Eosino, 1 p. 100;

Lympho, 24 p. 100;

Mono, 3 p. 100;

Myélo, 1 p. 100;

Présence de quelques hématies nucléées.

8 novembre : L'animal n'a toujours pas uriné. Il est somnolent, boit peu et refuse de manger.

A 11 heures, dosage de l'urée sanguine : 1 g. 45.

A 12 heures, quarante-huit heures après l'opération, le chien émet 300 cm³ d'urine hémoglobinurique de teinte porto contenant 1 g. 325 d'hémoglobine.

Hémoglobine, 85 p. 100;

Coagulation sur lame, 13 minutes;

Hématies, 3.805.000;

Leucocytes, 18.860.

9 novembre : L'animal demeure abattu et somnolent et refuse toute nourriture et toute boisson. Il émet quelques centimètres cubes d'urine claire ne contenant plus d'hémoglobine.

Urée sanguine, 1,45;

Hémoglobine, 80 p. 100;

Coagulation sur lame, 14 minutes;

Hématies, 3.317.000;

Leucocytes, 17.980;

Polyneutro, 93 p. 100;

Lympho, 3 p. 100;

Mono, 4 p. 100;

Présence de quelques hématies nucléées.

10 novembre : L'animal, toujours abattu, somnolent et sans appétit, n'a pas uriné.

Hémoglobine, 75 p. 100;

Coagulation sur lame, 15 minutes;

Hématies, 2.790.000;

Leucocytes, 12.400;

Polyneutro, 88 p. 100;

Lympho, 12 p. 100.

11 novembre : L'état du chien semble s'améliorer. Il a émis pendant la nuit environ 300 cm³ d'urine claire ne contenant plus d'hémoglobine.

Hémoglobine, 70 p. 100;

Coagulation sur lame, 15 minutes;

Hématies, 2.790.000;

Leucocytes, 15.720;

Polyneutro, 85 p. 100;

Lympho, 18 p. 100;

Mono, 1 p. 100;

Myélo, 2 p. 100.

12 novembre : L'animal boit et mange avec appétit et paraît beaucoup mieux. Les urines sont émises en quantité normale.

Urée sanguine, 0,42;

Hémoglobine, 75 p. 100;

Hématies, 3.193.000;

Leucocytes, 14.480;

Polyneutro, 81 p. 100;

Lympho, 14 p. 100;

Mono, 3 p. 100;

Myélo, 2 p. 100.

13 novembre : L'état de l'animal continue à s'améliorer.

Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.596.000;
Leucocytes, 13.780;
Polyneutro, 82 p. 100;
Lympho, 15 p. 100;
Mono, 2 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

14 novembre :

Urée sanguine, 0,38;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 4.030.000;
Leucocytes, 13.460.

15 novembre :

Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.470.000;
Leucocytes, 10.940.

17 novembre :

Urée sanguine, 0,60;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 4.061.000;
Leucocytes, 9.885.

19 novembre : L'état de l'animal est maintenant excellent.
La plaie du cou est complètement cicatrisée. Pas de traces d'albumine dans les urines.

Urée sanguine, 0,32;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.798.000;
Leucocytes, 10.520.

21 novembre :

Urée sanguine, 0,45;

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 5.332.000.

En résumé, comme chez le chien précédent, nous avons observé de l'anurie, qui s'est produite à deux reprises pendant quarante-huit heures chaque fois, et de l'azotémie qui a duré plus de quinze jours. Le taux des hématies, qui était resté stationnaire pendant les deux premiers jours, baissa par la suite pendant quatre jours, pour se relever ensuite progressivement, mais lentement.

*Conclusions sur l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine
à 3,5 p. 100.*

Dans l'ensemble, les résultats nous paraissent beaucoup moins brillants que dans les expériences où nous avons injecté des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100.

1° COMPORTEMENT DE L'ANIMAL AU COURS DE LA TRANSFUSION. —

Puisque deux succès ont été obtenus à la suite de ces deux expériences, l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine à 3,5 p. 100 s'est révélé satisfaisant au point de vue du résultat fonctionnel envisagé seul. Cependant, la réaction des animaux au cours de ces transfusions a été manifestement moins accusée que celle obtenue chez les chiens transfusés avec des solutions à 7 p. 100. Les mouvements respiratoires se sont bien amplifiés et régularisés, mais nous n'avons pas observé ce « coup de fouet » si caractéristique chez les animaux précédents. Les opérations ont pu être terminées sans le secours d'un aide pour maintenir l'animal. Cet état de dépression s'est prolongé après l'injection. Détachés et mis à terre, ces deux chiens nous ont paru sensiblement plus faibles et plus abattus que ceux des expériences précédentes.

2° ETUDE DE L'HÉMOGLOBINURIE ET DU TAUX DE L'URÉE SANGUINE. — La première miction n'a eu lieu que quarante-huit heures après l'opération dans les deux cas. Les urines, de teintes assez claires, contenaient peu d'hémoglobine. Chez l'un des animaux, elle n'a pas été dosée; chez l'autre (chien n° 13), la quantité décelée a été minime.

A la suite de cette première émission, très retardée, les animaux, refusant toute nourriture et toute boisson, ont traversé une période de somnolence très accentuée. Des dosages de l'urée sanguine pratiqués alors nous ont montré que le taux de celle-ci s'élevait dans de notables proportions, pour atteindre chez le chien n° 13 un maximum de 1 g. 45.

Il nous a paru intéressant de sacrifier l'un des animaux (le n° 11) pour juger de l'état de son rein par des examens histologiques.

Le chien n° 13 est resté pendant plusieurs jours dans un état de dépression assez marqué, ne s'alimentant pas et urinant très peu. L'animal s'est rétabli peu à peu, le taux de l'urée s'est abaissé, les urines ont été plus abondantes.

Actuellement, dix-huit jours après son opération, cet animal est dans un bon état de santé apparent. Il s'alimente et urine normalement. Les urines sont dépourvues de tout élément pathologique. Cependant, le taux de l'urée sanguine, après s'être abaissé de 1 g. 45 à 0 g. 40, se maintient depuis plusieurs jours à ce dernier chiffre.

3° RÉGÉNÉRATION GLOBULAIRE. — Elle a été intimement liée aux variations du taux de l'urée sanguine et s'est annoncée normale dans les deux jours qui ont suivi l'opération. Mais, bientôt, le nombre des globules rouges a diminué et une anémie s'est installée de plus en plus intense à mesure qu'augmentait le taux de l'urée sanguine. Lorsque ce dernier s'est mis à décroître, la régénération globulaire a repris et s'est poursuivie normalement.

En résumé, si l'en envisage le seul résultat opératoire,

l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine de cheval à 3,5 p. 100 a donné un résultat assez satisfaisant.

Mais les suites opératoires se sont révélées difficiles. Il s'est installé d'emblée une augmentation du taux de l'urée sanguine, accompagnée d'oligurie et même d'anurie transitoire, qui, sans compromettre la vie des animaux, a cependant considérablement gêné et retardé la réparation globulaire.

CHAPITRE IX

EXPERIENCES REALISEES AVEC DES SOLUTIONS D'OXYHEMOGLOBINE HETEROGENE à 14 p. 100.

Dans nos premières expériences, nous avons utilisé avec des résultats parfaitement satisfaisants des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100.

Dans une deuxième série de recherches, relatées dans le chapitre précédent, nous avons employé des solutions à 3,5 p. 100, et nous nous sommes heurté à des complications d'ordre rénal. Il restait à voir ce qui se passait dans le cas des injections de solutions d'hémoglobine à une concentration analogue à celle du sang, c'est-à-dire au taux de 14 p. 100.

C'est ce que nous avons étudié chez deux chiens.

CHIEN N° 14.

Poids : 10 kilos (8 novembre 1935). L'animal paraît être en excellente santé.

Nous nous proposons de réaliser sur cet animal, après saignée, une transfusion de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 14 p. 100.

Examens pratiqués avant l'opération :

Urée sanguine, 0,25;

Glycémie, 1,10;

Cholestérolémie, 1,42;

Hémoglobine, 95 p. 100;

Coagulation sur lame, 17 minutes;

Hématies, 5.518.000;
Leucocytes, 11.060;
Polynetro, 80 p. 100;
Eosino, 3 p. 100;
Mono, 4 p. 100;
Lympho, 13 p. 100.

La recherche de l'albumine dans les urines est négative.

8 novembre : Sous courte anesthésie générale au chloroforme, dénudation facile et rapide des veines jugulaires.

L'animal est en position horizontale.

A 10 h. 7, saignée de 150 cm³ réalisée en cinq minutes. L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 h. 35, saignée de 170 cm³ en six minutes. Le chien se débat violemment et hurle. Sa respiration est alors de 40 à la minute, son pouls à 200. Température rectale, 35°5.

Après cette déperdition sanguine de 320 cm³, un dosage de la glycémie donne : 1,34.

A 11 h. 10, saignée de 150 cm³ en quinze minutes.

Le volume total de la saignée s'élève à 470 cm³. L'animal est inerte et froid; sa respiration est difficile, superficielle, extrêmement rapide : 80 à la minute, et sujette à des irrégularités. Le pouls est à 220.

Nous arrêtons la saignée et procédons, par le bout proximal de la jugulaire droite, à l'injection d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 14 p. 100 préparée le 14 novembre.

A 11 h. 27, la transfusion est commencée. Le liquide s'écoule lentement en raison de sa grande viscosité.

Deux minutes après le début de l'injection, alors que l'animal n'avait encore reçu que 20 cm³ de solution, ses mouvements respiratoires sont devenus plus amples, très réguliers et se sont ralentis. Ils sont tombés de 80 à la minute à 66. Au bout de quatorze minutes, 150 cm³ de solution ayant été injectés, les mouvements respiratoires, très amples et très réguliers, ne sont plus que de 36 à la minute. Le pouls est à 160. L'animal sort peu à peu de sa torpeur et bientôt se débat violemment et hurle.

A 12 h. 48, 200 cm³ de solution ayant été injectés en tout, en vingt et une minutes, nous arrêtons la transfusion et ramenons alors l'animal en position horizontale. Celui-ci réagit fortement et aboie. Ses mouvements respiratoires sont de 28 à la minute. Pouls, 100.

Fermeture rapide de la plaie aux crins.

L'opération a duré deux heures. L'animal a reçu 28 grammes d'hémoglobine. Détaché et mis à terre, l'animal ne paraît nullement se ressentir de l'intervention. Il se dresse immédiatement sur ses pattes, marche dans le laboratoire et boit avec avidité.

A 18 heures, le chien est en parfait état. Il se promène et manifeste de la joie à notre arrivée. Il mange avec appétit une soupe de viande et de pain.

A 18 h. 30, l'animal émet 250 cm³ d'urine hémoglobinurique, de teinte rouge vif, contenant 7 g. 02 d'hémoglobine.

Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 13 minutes;
Hématies, 2.914.000;
Leucocytes, 14.260;
Polyneutro, 95 p. 100;
Lympho, 4 p. 100;
Mono, 1 p. 100.

9 novembre : L'état de l'animal est excellent.

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 14 minutes;
Hématies, 3.385.000;
Leucocytes, 18.600;
Polyneutro, 93 p. 100;
Lympho, 2 p. 100;
Mono, 3 p. 100;
Myélo, 2 p. 100.
Présence de nombreuses hématies nucléées.

10 novembre : L'animal, dont l'état est aussi satisfaisant que possible, a émis au cours de la nuit 150 cm³ d'urine hémoglobinurique, de teinte porto, contenant 0 g. 50 d'hémoglobine.

Examens pratiqués à jeun :

Urée sanguine, 0,70;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 3.720.000;
Leucocytes, 17.750;
Polyneutro, 70 p. 100;
Lympho, 30 p. 100.
Présence de quelques hématies nucléées.

Emission à 18 heures de 230 cm³ d'urine, de teinte porto, contenant 0 g. 32 d'hémoglobine.

11 novembre : L'animal est en excellent état. La plaie du cou suppure légèrement.

Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 15 minutes;
Hématies, 4.061.000;
Leucocytes, 18.600;
Polyneutro, 80 p. 100;
Lympho, 14 p. 100;
Mono, 3 p. 100;
Myélo, 3 p. 100.
Présence de quelques hématies nucléées.

12 novembre : L'animal a émis depuis la veille 500 cm³ d'urine contenant 0 g. 137 d'hémoglobine. A 18 heures, il émet encore 70 cm³ d'urine ne contenant plus aucune trace d'hémoglobine.

La présence de cylindres n'a jamais été décelée dans ces diverses urines hémoglobinuriques.

Urée sanguine, 0,55;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.880.000;
Leucocytes, 13.260;
Polyneutro, 82 p. 100;
Lympho, 12 p. 100;
Mono, 3 p. 100;
Myélo, 3 p. 100.

13 novembre :

Hémoglobine, 75 p. 100;
Hématies, 3.410.000;
Leucocytes, 12.400;
Polynéutro, 85 p. 100;
Eosino, 2 p. 100;
Lympho, 10 p. 100;
Mono, 2 p. 100;
Myélo, 1 p. 100.

14 novembre :

Urée sanguine, 0,35;
Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 3.980.000;
Leucocytes, 13.020.

15 novembre :

Hémoglobine, 80 p. 100;
Hématies, 4.350.000;
Leucocytes, 12.440.

17 novembre :

Urée sanguine, 0,22;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Hématies, 4.829.000;
Leucocytes, 11.418.

19 novembre : L'état de l'animal est toujours excellent. Aucune trace d'albumine dans les urines.

Urée sanguine, 0,25;
Hémoglobine, 90 p. 100;
Hématies, 5.518.000;
Leucocytes, 10.200.

En résumé, l'injection de solution d'hémoglobine à 14 p. 100 a produit un effet réparateur très intense, mais

pendant les quatre jours suivant cette injection, le taux de l'azotémie s'est élevé, atteignant jusqu'à 0,70. La régénération des globules rouges a subi parallèlement un temps d'arrêt.

CHIEN N° 15.

Poids : 16 kilos (10 novembre 1935). L'animal est très maigre, mais paraît être en assez bonne santé.

Nous nous proposons de réaliser sur ce chien, après saignée, une transfusion de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 14 p. 100

Examens pratiqués à jeun avant l'opération :

Urée sanguine, 0,20;
Hémoglobine, 95 p. 100;
Coagulation sur lame, 16 minutes;
Hématies, 6.014.000;
Leucocytes, 9.920;
Polynéutro, 71 p. 100;
Eosino, 1 p. 100;
Lympho, 25 p. 100;
Mono, 3 p. 100.

L'examen des urines décèle la présence de quelques traces d'albumine.

10 novembre : Sous courte anesthésie générale au chloroforme, dénudation rapide des veine jugulaires.

L'animal est en position horizontale.

A 9 h. 45, saignée de 240 cm³ réalisée en quatre minutes.

Mouvements respiratoires : 32 à la minute. Pouls : 100. L'animal est mis en position de Trendelenburg.

A 10 h. 20, saignée de 240 cm³ en cinq minutes.

Mouvements respiratoires : 64 à la minute. Pouls, 180. Le chien se débat violemment et hurle.

A 10 h. 40, saignée de 120 cm³ en sept minutes.

Mouvements respiratoires : 136 à la minute. Pouls : 200. L'animal entre dans la phase dépressive. Il ne se débat presque plus et gémit doucement.

A 11 heures, saignée de 150 cm³ en neuf minutes.

L'animal est inerte. Ses mouvements respiratoires sont devenus très superficiels, et plus lents (80 à la minute). Son pouls est incomptable et sujet à des intermittences.

Le volume de la déperdition sanguine atteint 750 cm³. Nous avons nettement l'impression que le chien va mourir et nous arrêtons la saignée.

A 11 h. 10, par le bout proximal de la veine jugulaire droite, nous procédons à une transfusion de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 14 p. 100 préparée le 4 novembre.

L'animal reçoit 50 cm³ de solution en quatre minutes. Sa respiration s'amplifie, devient moins pénible, se régularise.

Peu à peu, l'animal recommence à se débattre. Ses muqueuses se recolorent légèrement.

En vingt-deux minutes, nous injectons sans incidents 300 cm³ de solution. L'animal, complètement revigoré, se débat violemment et aboie. Nous arrêtons la transfusion.

Fermeture rapide de la plaie aux crins.

L'opération a duré deux heures quinze minutes. L'animal a reçu 42 grammes d'hémoglobine.

Détaché et mis à terre, l'animal peut immédiatement se dresser sur ses pattes et marcher dans la salle d'opération.

Sa respiration, ample et régulière, a un rythme de 20 à la minute. Le pouls est à 144.

A 15 heures, l'animal est en excellent état. Il se promène dans le laboratoire. Sa plaie n'a pas saigné.

Emission de 65 cm³ d'urine hémoglobininurique, de teinte rouge vif, contenant 1 g. 17 d'hémoglobine.

A 16 heures :

Hémoglobine, 95 p. 100;

Coagulation sur lame, 30 minutes;

Hématies, 3.782.000;

Leucocytes, 13.240;

Polyneutro, 97 p. 100;

Lympho, 2 p. 100;

Mono, 1 p. 100.

A 17 heures, émission de 50 cm³ d'urine hémoglobinurique, de teinte rouge vif, contenant 1 g. 12 d'hémoglobine.

11 novembre : L'animal aboie joyeusement à notre arrivée. Son état paraît excellent.

Dans le courant de la nuit, le chien a émis 350 cm³ d'urine hémoglobinurique, de teinte porto, contenant 3 g. 50 d'hémoglobine.

Hémoglobine, 90 p. 100;
Coagulation sur lame, 25 minutes;
Hématies, 4.061.000;
Leucocytes, 25.020;
Polynéutro, 92 p. 100;
Lympho, 6 p. 100;
Mono, 2 p. 100.

12 novembre : Pendant la nuit, l'animal a émis 200 cm³ d'urine contenant 0 g. 720 d'hémoglobine.

A 8 heures, émission de 120 cm³ d'urine contenant 0 g. 048 d'hémoglobine.

A 11 heures, émission de 70 cm³ d'urine contenant 0 g. 008 d'hémoglobine.

A 17 heures, émission de 80 cm³ d'urine claire ne contenant plus d'hémoglobine.

L'examen de ces diverses urines hémoglobinuriques n'a jamais révélé la présence de cylindres.

Examens pratiqués à jeun :

Urée sanguine, 0,95;
Hémoglobine, 85 p. 100;
Coagulation sur lame, 19 minutes;
Hématies, 4.650.000;
Leucocytes, 16.120;
Polynéutro, 92 p. 100;
Lympho, 3 p. 100;
Mono, 1 p. 100;
Myelo, 4 p. 100.

13 novembre. — L'animal est en excellent état. Il émet des urines claires et très abondantes.

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 4.495.000;

Leucocytes, 13.640;

Polynéutro, 92 p. 100;

Lympho, 3 p. 100;

Mono, 2 p. 100;

Myélo, 3 p. 100.

14 novembre : L'animal est abattu et un peu somnolent. Les urines sont normales et abondantes.

Urée sanguine, 1,20;

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 4.112.000;

Leucocytes, 13.300.

15 novembre :

Hémoglobine, 80 p. 100;

Hématies, 4.019.000;

Leucocytes, 13.528.

17 novembre :

Urée sanguine, 0,55;

Hémoglobine, 80 p. 100;

Leucocytes, 14.280.

19 novembre : L'état de l'animal est excellent. La plaie du cou suppure légèrement.

Urée sanguine, 0,45;

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 4.326.000;

Leucocytes, 14.800.

21 novembre :

Urée sanguine, 0,40;

Hémoglobine, 85 p. 100;

Hématies, 4.805.000;

Leucocytes, 12.400.

En résumé, ainsi que chez le chien précédent, nous avons observé, à la suite de l'injection de solution d'hémoglobine à 14 p. 100, une véritable résurrection. Mais, ici encore, s'est produite une azotémie qui a duré plus longtemps que précédemment, jusqu'à onze jours après l'opération; son taux est encore de 0,40. Le quatrième jour après l'injection, ce taux s'est élevé à 1 g. 20.

***Conclusions sur l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine
à 14 p. 100.***

De ces deux expériences, il résulte que la solution d'hémoglobine à 14 p. 100, après saignée, a un effet régénérateur très intense, mais qu'elle provoque malheureusement, dans les jours suivant l'injection, une azotémie appréciable. L'analyse des faits observés peut se résumer de la façon suivante :

1° COMPORTEMENT DE L'ANIMAL AU COURS DE LA TRANSFUSION. — L'injection des solutions d'oxyhémoglobine à 14 p. 100 a été pratiquée plus lentement que celle de solutions à concentration plus basse, car, bien que la viscosité du liquide fût beaucoup plus élevée, nous n'avions pas modifié notre matériel ni notre mode des injections.

Cependant, bien que la transfusion fût moins rapide, l'apport d'oxygène par ce liquide étant beaucoup plus intense, nous avons observé dans nos deux expériences, dès le début de l'injection, la même réaction favorable que dans le cas des injections plus rapides avec des solutions plus faibles.

De superficiels et pénibles, les mouvements respiratoires redevinrent rapidement profonds, aisés et réguliers. Très vite, les chiens sont sortis de l'état de torpeur dans lequel la saignée les avait plongés, et pour les maintenir pendant le

temps de fermeture de la plaie, le secours d'un aide a été nécessaire dans les deux interventions.

Il nous a même semblé que la réaction de l'organisme au cours de ces deux transfusions a été plus intense que dans tous les cas précédents. Détachés et mis à terre, nos deux animaux ont pu immédiatement se dresser sur leurs pattes, et leur comportement a été très vite absolument normal. Nous n'avons jamais noté chez eux ni tremblement ni frisson.

2° ETUDE DE L'HÉMOGLOBINURIE. — Dans les deux cas, la première miction a eu lieu dans les heures qui ont suivi immédiatement l'opération. Les urines ont été, d'emblée, hémoglobinuriques, et la décharge d'hémoglobine a été intense. Les urines sont redevenues normales au bout de trois jours. Nous n'avons jamais noté la présence de cylindres.

Le chien n° 14 a reçu 28 grammes d'hémoglobine et en a éliminé environ 8 grammes par les urines.

Le chien n° 15 a reçu 42 grammes d'hémoglobine et en a éliminé environ 6 grammes seulement par la même voie.

Comment expliquer cet écart considérable ? Si l'assertion de Matsumara est exacte, il est possible que, chez cet animal, la voie d'excrétion principale de l'hémoglobine ait été l'intestin, de préférence aux reins.

Nous avons été frappé par la polyurie manifeste présentée par nos deux animaux. Cette polyurie a duré environ trois jours. Sa terminaison a coïncidé avec celle de l'hémoglobinurie.

Les urines ont été émises, par la suite, en quantité normale, et leur examen n'a décelé la présence d'aucun élément pathologique.

3° VARIATIONS DU TAUX DE L'URÉE SANGUINE. — Normal chez ces deux animaux avant l'intervention, le taux de l'urée sanguine a rapidement augmenté dans les deux jours qui ont suivi la transfusion.

Chez le chien n° 14, animal ayant reçu 28 grammes d'hémo-

globine, le taux de l'urée sanguine est passé par un maximum (0,70) deux jours après l'intervention, pour redevenir normal au bout de neuf jours.

Chez le chien n° 15, animal ayant reçu 42 grammes d'hémoglobine, le taux de l'urée sanguine a atteint son maximum (1,20) quatre jours après la transfusion. Au moment où nous terminons ce travail, le taux de l'urée sanguine, qui s'élève encore chez lui à 0,40, tend à revenir progressivement à la normale.

Malgré cette notable élévation du taux de l'azotémie, l'état de ces deux animaux est demeuré excellent.

4° RÉGÉNÉRATION GLOBULAIRE. — Elle a été manifestement liée aux variations du taux de l'urée sanguine.

Sa courbe n'a pas présenté une allure aussi régulièrement ascendante que celle des animaux transfusés avec des solutions d'oxyhémoglobine à 7 p. 100. A chaque augmentation du taux de l'urée sanguine a correspondu, en effet, une diminution du nombre des hématies. Malgré ces variations, l'un de nos animaux a recouvré actuellement un taux normal d'hématies. L'autre n'en est que peu éloigné.

En résumé, l'emploi de solutions d'oxyhémoglobine à 14 p. 100 a donné de bons résultats opératoires immédiats.

Mais les animaux ont présenté pendant leur convalescence une élévation importante du taux de l'azotémie, qui est revenu au bout d'une dizaine de jours à un chiffre normal.

Il a existé une polyurie manifeste pendant la période d'excrétion de l'hémoglobine par le rein.

Malgré la présence de ces différents phénomènes, les deux animaux d'expérience se sont parfaitement rétablis.

CHAPITRE X

LES INJECTIONS D'HEMOGLOBINE PROVOQUENT-ELLES DES LESIONS VISCERALES ?

I. — *Recherches antérieures.*

Les expériences précédentes nous ont montré qu'on pouvait injecter apparemment sans inconvénient, au moins au point de vue fonctionnel, de grandes quantités de solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100; mais que, par contre, les injections de solutions d'hémoglobine à des taux plus bas ou plus élevés donnaient lieu à des accidents, spécialement d'ordre rénal. Il y avait lieu, dans ces conditions, de vérifier histologiquement l'état des organes d'animaux soumis à des injections de solutions d'hémoglobine de concentrations différentes.

Quelques auteurs se sont déjà préoccupés de savoir si l'hémoglobine en injections altère ou non les parenchymes. Mais il ne semble pas que leurs recherches aient varié en fonction du taux des solutions injectées.

Parmi tous ces auteurs, Schmidt, Yoshu Fukuda et Jean Oliver, Newman et Wipple, Bayliss et Tookey Kerridge, Shotsu enfin, pour ne citer que les principaux, ont injecté à des animaux divers des quantités d'hémoglobine, soit étrangère, soit de l'espèce, ne dépassant que très légèrement leur taux rénal d'excrétion respectif. Ces auteurs ont, de préférence, répété sur le même animal des injections d'hémoglobine à petites doses, plutôt que de les soumettre à des injections à doses massives. Dans ces expériences, nous ne

relevons que peu de détails sur le comportement des animaux, sur leur survie, leur mort ou le moment où ils ont été sacrifiés en vue d'examen histologiques.

Il ressort cependant des observations de ces auteurs que, sous l'influence d'injections d'hémoglobine à doses minimales mais répétées :

Le rein présenterait à la longue une lésion fonctionnelle liée à l'élimination de la solution injectée. Quelques cellules épithéliales seraient lésées, mais ces lésions disparaîtraient avec la suppression des injections.

Le foie, la rate et les reins contiendraient, à la suite de ces injections à doses minimales mais répétées, un pigment renfermant du fer.

Selon Newman et Wipple, le pigment rénal serait déplacé à la suite d'une anémie. Ceci indiquerait une conservation par le rein du matériel nécessaire à la construction de l'hémoglobine neuve.

D'autre part, des auteurs français : Granel et Hédon, puis Broussy, ont étudié chez le cobaye les modifications anatomiques et histologiques causées par des injections sous-cutanées de solutions d'hémoglobine étrangère ou de l'espèce.

Selon Granel et Hédon, une injection sous-cutanée d'hémoglobine de l'espèce, à forte dose, provoquerait en vingt-quatre heures, au niveau des poumons, « des lésions profondes de desquamation épithéliale et de congestion vasculaire ». Avec des doses répétées, ces auteurs ont observé « des lésions secondaires d'infiltration leucocytaire », une « tendance à l'hépatisation avec amaigrissement et dépérissement de l'animal ».

Plus tard, Broussy a montré que si l'on injecte sous la peau d'un cobaye 2 g. 10 d'hémoglobine de l'espèce, soit 15 cm³ d'une solution à 14 p. 100, « la cellule hépatique, fortement intoxiquée ou incapable de réagir, paraît comme sidérée. Le noyau semble perdre ses affinités tinctoriales et devient légèrement acidophile. Il existe dans le parenchyme hépatique de nombreuses suffusions sanguines, signe d'une congestion

intense de l'organe ». Plus loin, ce même auteur a rapporté que des lésions semblables sont produites par l'injection sous-cutanée de 0 g. 70 d'hémoglobine humaine en solution à 14 p. 100, alors que 2 g. 10 de la même hémoglobine amèneraient rapidement la mort de l'animal.

II. — *Recherches personnelles.*

Nous exposerons tout d'abord les résultats auxquels nous a conduit la reprise des travaux de Broussy, avec de l'hémoglobine humaine injectée par voie sous-cutanée. Nous relaterons ensuite les renseignements fournis par l'étude des organes de chiens et de lapins soumis à des injections intra-veineuses de solutions d'hémoglobine de cheval. Dans un cas, comme dans l'autre, nous avons utilisé des dilutions de concentrations différentes.

Nous devons les examens histologiques qui sont relatés dans ce travail à la haute compétence de M. le Professeur Lacoste, qui, avec son extrême obligeance, à bien voulu étudier les pièces que nous lui avons apportées. Nous nous excusons auprès de lui de ne lui avoir fourni que des documents incomplets, ayant été pris par le temps; mais ces quelques recherches pourront cependant servir de point de départ à des études ultérieures plus approfondies. M. le Professeur G. Dubreuil, avec sa bienveillance coutumière et sa haute autorité, a bien voulu également s'intéresser à notre travail.

A. — *Injectons sous-cutanées de solutions d'hémoglobine humaine à des cobayes.*

Pour la préparation des solutions d'hémoglobine, Broussy s'est reporté à Granel dont voici, en substance, la technique. Le sang, recueilli dans une seringue contenant, pour éviter la coagulation, 0,2 cm³ de solution concentrée d'oxalate de

sodium, est placé dans un tube à centrifuger. Après centrifugation, le plasma est soigneusement enlevé avec une pipette pour ne laisser au fond du tube que le culot de globules. Ceux-ci sont hémolysés à l'eau distillée, mise en quantité suffisante pour rétablir le volume primitif du sang. On obtient ainsi, après laquage complet des globules rouges, une solution d'hémoglobine dont la concentration est d'environ 14 p. 100.

Le 23 octobre, nous nous sommes fait prélever 100 cm³ de sang, et nous avons préparé :

- 30 cm³ de solution d'hémoglobine humaine à 14 p. 100 type Granel;
- 30 cm³ de solution d'hémoglobine humaine à 14 p. 100, préparée suivant notre méthode, qui diffère de la précédente par le lavage répété des globules, l'élimination des stromas globulaires par centrifugation, et le traitement par l'éther;
- 15 cm³ enfin de solution d'hémoglobine humaine à 7 p. 100, préparée également suivant notre méthode.

Le même jour, ces différentes solutions furent injectées à cinq cobayes de même poids (500 grammes) qui reçoivent en injections sous-cutanées, moitié dans la région abdominale, et moitié dans la région dorsale :

- Les cobayes n^{os} 1 et 2 : chacun 15 cm³ de solution à 14 p. 100 type Granel, soit 2 g. 10 d'hémoglobine;
- Les cobayes n^{os} 3 et 4 : chacun 15 cm³ de solution à 14 p. 100 préparée suivant notre méthode, soit 2 g. 10 d'hémoglobine;
- Le cobaye n^o 5 : 15 cm³ de solution à 7 p. 100 préparée suivant notre méthode, soit 1 g. 05 d'hémoglobine.

Il faut noter que ces doses, même la moins importante, sont énormes par rapport à la quantité totale d'hémoglobine

d'un cobaye de 500 grammes (quantité qui est de 8 à 10 grammes environ).

Vingt-quatre heures après l'injection, ces cinq animaux étaient dans un état apparent excellent.

1° RÉACTIONS PRODUITES PAR LES INJECTIONS SOUS-CUTANÉES
DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE HUMAINE A 14 P. 100
CHEZ LE COBAYE.

a) ETAT DES ORGANES VINGT-QUATRE HEURES APRÈS L'INJECTION D'HÉMOGLOBINE. — Nous avons sacrifié vingt-quatre heures après l'injection :

- Le cobaye n° 1, qui avait reçu 2 g. 10 d'hémoglobine humaine type Granel;
- Le cobaye n° 3, qui avait reçu 2 g. 10 d'hémoglobine humaine préparée suivant notre méthode.

Nous n'avons constaté à l'autopsie aucune lésion macroscopique ni chez l'un, ni chez l'autre.

L'examen histologique a révélé chez les deux animaux ce qui suit :

Au niveau du foie : On note une légère congestion de l'organe. Les méthodes courantes ne révèlent pas de modifications très accusées au niveau des cellules hépatiques. Il existe cependant, par places, un petit nombre de cellules claires. De plus, le système Kuppferien a réagi d'une façon diffuse, et particulièrement accusée dans certaines plages. Les cellules de Kuppfer paraissent plus nombreuses et sont plus visibles qu'à l'état normal; leurs noyaux sont plus gros. En même temps, il existe quelques cellules de type lymphocytaire au contact des travées. On ne remarque pas de surcharge pigmentaire ni au niveau des cellules hépatiques, ni au niveau des cellules de Kuppfer.

Au niveau de la rate : Il existe dans la pulpe rouge, dans les cordons de Billroth et dans les sinus sanguins, un assez grand nombre d'amas muriformes, pour la plupart volumi-

neux. Ces dépôts hémoglobiques sont libres; un petit nombre seulement est l'objet d'une fixation phagocytaire de la part des cellules de la rate. On note la présence d'ocrococytes.

La pulpe rouge et la pulpe blanche sont nettement distinctes. Dans la pulpe rouge, on remarque déjà l'apparition d'un certain nombre de plages diffuses de cellules lymphoïdes. Il n'y a nulle part de transformation myéloïde.

Au niveau des poumons : La réaction du parenchyme alvéolaire est nette et étendue. Elle se caractérise par un épaississement général des parois alvéolaires, plus marqué dans certains endroits. Les cloisons alvéolaires sont épaissies, et leurs noyaux sont plus abondants qu'à l'état normal. En beaucoup d'endroits, l'épithélium est gonflé et prend un aspect cubique. Il n'y a ni phénomènes de desquamation ni exsudats intra-alvéolaires. On note dans les cloisons alvéolaires la présence d'éléments de nature conjonctive qui tendent à se fusionner pour former des amas plasmodiaux plus ou moins importants. Autour des vaisseaux et des veinules, cette réaction conjonctive est plus accusée.

Au niveau des reins, les lésions sont différentes suivant les modes de préparation de la solution d'hémoglobine :

Dans le rein du cobaye qui a reçu 2 g. 10 d'hémoglobine humaine type Granel, il existe de grosses lésions très étendues dans la substance corticale, au niveau des tubes contournés et des branches descendantes de l'anse de Henle. Ces lésions sont caractérisées par une tuméfaction trouble et un aspect homogène des cellules épithéliales. Les glomérules sont congestionnés et les espaces périglomérulaires effacés.

Dans le rein du cobaye qui a reçu 2 g. 10 d'hémoglobine humaine préparée suivant notre méthode, les lésions sont beaucoup plus discrètes et l'organe est normal dans la majeure partie de son étendue. Dans quelques tubes, cependant, les cellules sont tuméfiées et gonflées. Les glomérules paraissent intacts pour la plus grande majorité. On note une congestion irrégulière du réseau capillaire dans la zone corticale. En somme, il s'agit d'une réaction discrète et topographiquement limitée.

b) ETAT DES ORGANES DIX JOURS APRÈS L'INJECTION D'HÉMOGLOBINE. — *Le 1^{er} novembre*, dix jours après leur inoculation, nous avons sacrifié les cobayes n^{os} 2, 4 et 5, qui, jusque-là, étaient restés dans un état apparent excellent.

A l'autopsie, on note, chez deux animaux sur trois, la présence d'une escarre abdominale très importante par son étendue; nous pensons que l'hémoglobine ne peut être administrée par voie sous-cutanée. A l'ouverture des animaux, on ne constate l'existence d'aucune lésion macroscopique.

Chez les cobayes n^{os} 2 et 4, qui avaient reçu 2 g. 10 d'hémoglobine humaine préparée respectivement suivant la méthode de Granel et suivant la nôtre, l'examen histologique a révélé des lésions analogues :

Au niveau du foie : Il existe un assez grand nombre de cellules claires, répandues dans toute l'étendue de l'organe et sans répartition topographique bien définie dans les lobules.

Il y a toujours une vive réaction kuppérienne présentant les mêmes caractères généraux que dans les cas précédents.

En plus des phénomènes congestifs de l'organe, on constate, la présence d'une réaction du tissu conjonctif périvasculaire qui demeure cependant assez discrète.

Au niveau de la rate : Les amas de pigments d'hémoglobine libres ont disparu. Il existe cependant quelques gros macrophages (ocrocyles) chargés de pigments hémoglobiques, et leur nombre paraît dépasser légèrement celui que l'on trouve à l'état normal.

La réaction lymphoïde est très vive, et actuellement dans la pulpe rouge il existe de nombreux amas de cellules lymphoïdes du type lymphocytaire constituant des plages irrégulières. On remarque, par places, des cellules qui tendent à se fusionner et qui ébauchent une réaction plasmodiale aboutissant à la formation de grosses cellules possédant plusieurs noyaux. Ceux-ci sont individualisés ou tendent à se fusionner en une grosse masse chromatique multilobée. Les cellules ont un protoplasma acidophile, et certaines d'entre elles ont un noyau pycnotique.

Au niveau du poumon. Les réactions pulmonaires sont moins accentuées que chez les deux cobayes précédents. Il existe cependant, par place, une zone réactionnelle caractérisée par un état cubique de l'épithélium et une augmentation du nombre des noyaux des parois alvéolaires. On ne note pas de manifestation de surcharge pigmentaire.

Au niveau du rein : Les tubes sont distendus et présentent une desquamation épithéliale nette. Il existe dans leur lumière des cylindres granuleux ou hématiques.

2° RÉACTIONS PRODUITES PAR LES INJECTIONS SOUS-CUTANÉES
DE SOLUTIONS D'HÉMOGLOBINE A 7 % CHEZ LE COBAYE.

Chez le cobaye qui avait reçu la dose déjà énorme de 1 g. 05 d'hémoglobine préparée suivant notre méthode, l'examen histologique a révélé :

Au niveau du foie : L'aspect général est, dans l'ensemble, le même que chez les cobayes n^{os} 3 et 4. Les cellules claires sont peu abondantes. Il existe un assez grand nombre de cellules sombres, à protoplasma acidophile et homogène présentant les caractères de cellules sénescents, ainsi qu'on l'admet actuellement.

Au niveau de la rate : On note dans la pulpe rouge la présence de quelques rares ocytes; pas de masses libres de pigments hémoglobiques. La réaction hyperplasique lymphoïde semble un peu moins forte que précédemment.

Au niveau du poumon : La réaction est analogue à celle observées chez les cobayes n^{os} 3 et 4, mais moins accentuée.

Au niveau du rein : Il existe un degré assez notable de congestion vasculaire de la substance corticale. L'état de distension des tubes est beaucoup moins accusé que chez les cobayes n^{os} 3 et 4. Il n'y a pas de cylindres intratubulaires. Seuls, quelques glomérules paraissent congestionnés.

B. — Injections intraveineuses de solutions d'hémoglobine
de cheval à des lapins ou à des chiens.

1° RÉACTIONS PRODUITES PAR UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE
A 3,5 p. 100, EN INJECTION INTRA VEINEUSE CHEZ LE CHIEN.

Nous rapportons ici les résultats des examens histologiques des organes du chien n° 14 qui avait reçu, après saignée, 7 g. 87 d'hémoglobine de cheval d'une solution à 3,5 p. 100, et avait été sacrifié au bout de dix jours, après avoir présenté des phénomènes très marqués d'insuffisance rénale.

Au niveau du foie : Il existe des lésions très étendues, caractérisées par des altérations des cellules hépatiques dont la plus grande partie se présentent avec un aspect ratatiné et irrégulier. Leur protoplasma granuleux est très différent de celui des cellules claires. Les noyaux sont, pour la plupart, difficilement colorables, et chez certains on note des signes indiscutables de pycnose. Par places, même, on note des zones de fonte massive des cellules hépatiques.

Il existe des îlots d'infiltration lymphocytaire, particulièrement au voisinage des vaisseaux sanguins et même dans certaines plages intralobulaires.

Enfin, il existe dans le parenchyme hépatique, d'une façon discrète, de ces gros éléments mégacaryocytes et polycaryocytes, déjà observés, et qui, pour la plupart, sont en voie de dégénérescence.

Au niveau de la rate : La pulpe blanche est très abondante. Il existe manifestement une réaction lymphoïde de cet organe. Cependant, on n'a pas rencontré de formations cellulaires indiquant une transformation myéloïde.

On remarque la présence d'un grand nombre de cellules à noyaux multiples (polycaryocytes) ou à gros noyaux (mégacaryocytes). Beaucoup de ces cellules présentent d'ailleurs des manifestations de pycnose à divers stades évolutifs.

On n'a pas observé de surcharges pigmentaires.

Au niveau du poumon : Il existe une grosse réaction du parenchyme caractérisée par un épaissement des parois alvéolaires dont les noyaux sont plus nombreux qu'à l'état normal. Par endroits, l'épithélium des alvéoles devient cubique et vacuolaire, mais on ne remarque ni desquamation épithéliale, ni exsudat intratubulaire.

On note également la présence de grosses cellules du type polycaryocyte, en assez grand nombre et situées dans les parois alvéolaires. Ces cellules indiquent une réaction conjonctive déjà observée dans les examens des animaux précédents.

Au niveau du rein : Il existe de grosses lésions de néphrite glomérulaire et épithéliale aiguë. On note une desquamation des cellules épithéliales et une dilatation marquée des tubes.

On note également l'existence d'hémorragies glomérulaires et la présence de cylindres hématiques et granuleux intratubulaires. Ces lésions sont très étendues et portent sur la substance corticale et sur la substance médullaire. Par place, la réaction du tissu conjonctif interlobulaire est caractérisée par une infiltration des cellules conjonctives du type lymphocytaire.

2° RÉACTIONS PRODUITES PAR UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE A 14 P. 100 EN INJECTION INTRAVEINEUSE CHEZ LE LAPIN.

Nous exposons dans ce paragraphe les résultats des examens histologiques d'un lapin que nous avons sacrifié, trois jours après une injection intraveineuse de 6 cm³ de solution d'hémoglobine de cheval à 14 p. 100, soit 0 g. 84 d'hémoglobine.

Au niveau du foie : La réaction de clarification est modérée du côté des cellules hépatiques, mais on note à l'intérieur de celles-ci la présence de quelques fines granulations pigmentaires, très rares et de coloration rouge brun.

La réaction du système kuppérien est caractérisée par une

augmentation du volume des noyaux dont la colorabilité est plus grande. Ce qui frappe surtout, c'est la réaction conjonctive que l'on observe au niveau du tissu conjonctif des espaces périlobulaires, et la congestion nettement accusée des capillaires radiés du lobule avec des phénomènes de diapédèse de la part des cellules blanches mononucléées, lymphocytes surtout, et de quelques polynucléaires.

Au niveau de la rate : Il existe une réaction assez nette de nature lymphoïde caractérisée par une hyperplasie des corpuscules de Malpighi, qui sont plus nombreux et plus volumineux qu'à l'état normal, et par la présence de plages diffuses et irrégulières de tissu lymphoïde dans la pulpe rouge.

La réaction plasmodiale, fréquemment rencontrée ou ébauchée dans les cas précédents, ne se manifeste pas dans celui-là. Il existe quelques oocrocytes peu abondants, mais assez volumineux. Pas de pigment hémoglobique libre.

Au niveau du poumon : La réaction est modérée et est surtout caractérisée par un aspect gonflé et cubique de l'épithélium alvéolaire, sans desquamation, ni exsudat.

Dans la paroi alvéolaire elle-même, un peu épaissie, les vaisseaux capillaires sont congestionnés, et il existe des noyaux en plus grande abondance qu'à l'état normal.

Au niveau du rein : Il existe des lésions de néphrite aiguë, d'intensité modérée, caractérisées par la congestion des glomérules et des capillaires interlobulaires de la substance corticale. Ces lésions sont également caractérisées par des phénomènes de desquamation épithéliale modérée, mais cependant indiscutable, siégeant plus particulièrement dans la région du cortex corticis.

On ne relève pas la présence de cylindres intratubulaires.

3° RÉACTIONS PRODUITES PAR UNE SOLUTION D'HÉMOGLOBINE A 7 P. 100 EN INJECTIONS INTRAVEINEUSES RÉPÉTÉES CHEZ LE LAPIN.

Nous avons soumis pendant le mois d'octobre un lot de lapins à des injections intraveineuses répétées de solutions

d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, afin de rechercher dans leur sérum la présence éventuelle de précipitines, comme nous le verrons au chapitre XII.

Une douzaine de jours après la dernière injection, nous avons sacrifié deux de ces animaux, qui avaient reçu chacun 2 g. 25 d'hémoglobine. Nous n'avons noté à l'autopsie aucune lésion macroscopique. L'examen histologique a révélé ce qui suit :

Au niveau du foie : Il n'y a pas de cellules claires. On remarque dans les cellules hépatiques la présence de fines granulations de pigment. On ne note pas de réaction du système de Kupffer et du système conjonctif périvasculaire.

Au niveau de la rate : Il n'existe que de rares masses d'hémoglobine libres et très peu d'ocrocytes ayant phagocyté du pigment hémoglobique. Les réactions polycaryocytaire et mégacaryocytaire font défaut. On distingue bien la pulpe blanche et la pulpe rouge. Entre les sinus de la rate, on trouve une infiltration lymphoïde discrète des cordons de Billroth.

Au niveau du poumon : Les alvéoles ont un aspect normal dans presque toute l'étendue de la préparation. Dans de rares endroits, les parois alvéolaires paraissent légèrement épaissies.

Au niveau du rein : Les réactions sont très peu marquées et l'organe est normal dans la majorité de son étendue. Tout au plus note-t-on dans le cortex corticis une zone où les tubes sont légèrement dilatés. On n'a jamais remarqué de dépôt de pigment.

III. — *Vue d'ensemble sur les lésions observées dans nos recherches personnelles après les injections de solutions d'hémoglobine hétérogène de concentration différente.*

Telles sont les descriptions que M. le Professeur Lacoste a bien voulu nous faire de l'état des organes des animaux à qui nous avons injecté, à des taux différents et par des voies différentes, des solutions d'hémoglobine hétérogène.

Nous croyons pouvoir tirer, de cette étude analytique, l'impression d'ensemble suivante : l'injection de solution d'hémoglobine hétérogène a provoqué, chez tous les animaux, des réactions de même ordre, mais dont l'intensité a varié de façon considérable, beaucoup moins en fonction du mode de préparation de la solution, de l'espèce animale utilisée, et de la voie d'inoculation (réserve faite des réactions locales au point d'inoculation après injections sous-cutanées) que de la concentration de la solution employée. Quant à la dose totale d'hémoglobine injectée, nous ne pouvons pas apporter ici de conclusions précises, n'ayant pas eu le temps de faire varier une expérience sur ce sujet. Tout ce que nous pouvons dire, c'est que, dans tous les cas, nos animaux ont reçu des quantités d'hémoglobine très supérieures à celles de leur seuil rénal d'excrétion respectif. Les résultats suivants ne valent donc que pour des injections relativement très importantes d'hémoglobine hétérogène.

A. — Solutions d'hémoglobine à 14 p. 100.

Nous commençons par résumer les lésions observées chez des animaux ayant subi des injections de solution d'hémoglobine à 14 p. 100, parce que ce sont celles qui nous permettent le mieux, semble-t-il, de dégager l'allure générale des réactions suscitées. Les modifications histologiques observées dans ce cas sont, en effet, beaucoup plus marquées que dans le cas d'injections de solution à 7 p. 100 et permettent, par conséquent, une description plus aisée. Elles sont beaucoup moins prononcées que dans le cas d'injection de solution à 3,5 p. 100 qui ont déterminé des lésions dégénératrices très intenses, surtout au niveau du foie et des reins.

Chez des animaux soumis à des injections de solution d'hémoglobine hétérogène à 14 p. 100, les réactions produites ont été à peu près semblables, que les injections aient été faites sous la peau ou dans les veines chez le cobaye ou chez le lapin, avec de l'hémoglobine d'origine humaine ou

de l'hémoglobine de cheval, préparée suivant la méthode de Granel ou suivant notre méthode. Ces lésions sont plus marquées au niveau du foie et des reins qu'au niveau des poumons et de la rate.

Du côté des reins, il existe quelques lésions de néphrite glomérulo-épithéliale aiguë, déjà visibles au bout de vingt-quatre heures, et caractérisées, en certains endroits, par une tuméfaction trouble et un aspect homogène des cellules épithéliales, ainsi que par une congestion des glomérules. Ces lésions aboutissent, en quelques jours, à une desquamation épithéliale par plages, et à la présence, de-ci de-là, de cylindres granuleux ou hématiques dans les tubes.

Du côté du foie, il existe des traces non douteuses de réaction qui se produisent dès le premier jour et se précisent dans la suite. La congestion de l'organe est la règle. Elle s'accompagne de processus plus ou moins accentués de diapédèse de globules blancs, notamment de lymphocytes et de mononucléaires. On voit apparaître, du côté des cellules hépatiques, des cellules claires, d'abord peu nombreuses, puis progressivement plus abondantes, sans jamais présenter de répartition bien typique dans l'intérieur du lobule. La signification de cette réaction de « clarification » a été bien précisée par les recherches cytologiques, expérimentales et pathologiques de ces dernières années (N. Fiessinger, R. Noël et ses élèves, G. Albott, F. Martin, etc.). Il s'agit d'éléments en état d'hyperfonctionnement qui, dans le cas présent, est en rapport avec l'introduction dans l'organisme d'une quantité abondante d'albumine étrangère. Les formations conjonctives de l'organe réagissent toujours vivement et précocement. C'est ainsi que l'on note, d'une façon constante, l'hypertrophie du système kuppferien, dont les cellules deviennent plus nombreuses, les noyaux plus volumineux et plus colorables. Très précocement, il existe aussi une réaction de prolifération cellulaire au niveau du tissu conjonctif périlobulaire. Cette réaction s'accuse peu à peu et peut présenter le type plasmodial. D'une façon générale, la surcharge pigmentaire du

parenchyme hépatique est très discrète ou même absente. Chose curieuse, elle épargne les cellules de Kupffer, et ce n'est que dans quelques cas qu'on la voit se manifester, et encore d'une façon peu marquée, au niveau des cellules hépatiques.

Du côté des poumons, les lésions se caractérisent par une modification de l'épithélium alvéolaire qui tend à devenir gonflé et cubique. Il existe une prolifération des cellules conjonctives dans les parois alvéolaires épaissies et congestionnées, et où l'on peut voir des phénomènes indiscutables de diapédèse. Dans beaucoup de cas, on note une ébauche de réaction un peu particulière caractérisée par la tendance de ces cellules à fusionner en figures plasmodiales affectant soit la forme de polycaryocytes, soit celle de mégacaryocytes, reliées par des figures intermédiaires. Les phénomènes de surcharge pigmentaire sont toujours discrets. Il faut noter qu'il n'existe jamais ni desquamation épithéliale, ni exsudat alvéolaire.

Du côté de la rate enfin, on observe, au bout de vingt-quatre heures, la présence d'abondantes et volumineuses masses de pigment hémoglobique, situées dans la pulpe rouge. A cette période, les processus de fixation du pigment par les cellules de la rate n'ont pas encore commencé. Plus tard, on se trouve en présence d'une réaction lymphoïde de l'organe, caractérisée par l'augmentation du volume et du nombre des corpuscules de Malpighi et surtout par la présence dans les cordons de Billroth de nombreuses plages d'infiltration lymphoïde pure. Ici encore, on observe parfois des manifestations très actives de la réaction plasmodiale signalée dans les organes précédents.

Il résulte de ces faits que les injections d'hémoglobine étrangère, à la concentration de 14 p. 100, affectent, d'une part, les formations conjonctives des viscères, et, d'autre part, leurs éléments épithéliaux différenciés.

Dans le poumon, le foie et la rate, il s'agit de manifestations d'hyperplasie et d'hyperfonctionnement traduisant un processus de défense antixénique de l'organisme.

Au niveau du rein, il y a des altérations liées au passage de substances irritantes dérivées, sans doute du métabolisme de l'hémoglobine injectée ou du métabolisme général dévié par cette injection.

B. — Solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100.

Nous n'avons à opposer au groupe des animaux précédents qu'un seul animal (chien n° 11) ayant reçu, après saignée, une injection intraveineuse de 225 cm³ de solution d'hémoglobine de cheval à 3,5 p. 100, soit 7 g. 87 d'hémoglobine. Cet animal fut sacrifié au bout de dix jours, ayant présenté, pendant toute cette période, de l'anurie avec forte azotémie, puis de l'oligurie. Il était, de plus, dans un état peu brillant au moment où il a été tué, ayant à peu près complètement refusé de manger et de boire depuis l'injection. Il fallait s'attendre, dans ces conditions, à observer des lésions importantes des viscères. De fait, celles-ci se sont montrées considérables, surtout au niveau du foie et des reins.

Du côté du foie, on observe une véritable dégénérescence de la cellule hépatique pouvant aller, par places, jusqu'à une fonte massive des cellules. Les réactions conjonctives sont également importantes et indiquent un début de sclérose.

Du côté des reins, il s'agit de néphrite glomérulo-épithéliale aiguë diffuse, avec hémorragies glomérulaires et cylindres hématiques et granuleux intratubulaires.

Du côté des poumons, les lésions sont beaucoup moins intenses, puisqu'il n'y a ni desquamation épithéliale, ni exsudat intra-alvéolaire. La réaction se caractérise seulement par un épaississement des parois et, par endroits, l'apparition de cellules cubiques et vacuolaires.

Enfin, en ce qui concerne la rate, il y a une réaction lymphoïde importante et présence d'un grand nombre de polycaryocytes et de mégacaryocytes, souvent en état de pycnose.

Il semble que les lésions profondes observées au niveau du foie et des reins puissent être considérées comme une

accentuation considérable des altérations constatées chez les animaux précédents, l'allure générale de la réaction restant la même.

C. — Solution d'hémoglobine à 7 p. 100.

Inversement, chez des animaux, cobayes ou lapins, ayant reçu des injections de solution d'hémoglobine hétérogène à 7 p. 100, les réactions produites furent peu marquées.

Du côté du rein notamment, on a observé seulement un peu de congestion des glomérules et par place une légère dilatation des tubes.

Du côté du foie, chez le cobaye injecté par voie sous-cutanée, on peut noter l'existence de quelques cellules claires, ainsi qu'une légère réaction du système kuppérien. Mais chez le lapin, injecté à plusieurs reprises par voie veineuse, ces phénomènes ne furent pas sensibles.

Du côté des poumons, à peine peut-on remarquer seulement un léger épaississement des parois alvéolaires.

Enfin, au niveau de la rate, on n'observa que de rares masses d'hémoglobine et très peu d'ocrocytes. L'infiltration lymphoïde a été peu marquée.

IV. — *Conclusions.*

Si nous rapprochons maintenant les résultats obtenus par l'examen histologique des organes d'animaux inoculés avec des solutions d'hémoglobine hétérogène de concentration différente de ceux que nous avons observés au point de vue fonctionnel dans des conditions analogues, on constate que, dans l'ensemble, il existe, apparemment, une concordance indubitable.

Les animaux soumis à des injections de solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100 ont présenté des troubles graves : apathie, anorexie absolue, anurie et oligurie, azotémie. Or, il

se trouve que c'est précisément dans ce cas qu'on trouve les lésions les plus graves, caractérisées notamment par une dégénérescence profonde du foie et des reins.

Les animaux ayant subi des injections de solution d'hémoglobine à 14 p. 100 se sont comportés, au point de vue fonctionnel, beaucoup mieux que les précédents. Ils se montrèrent alertes, vifs, mangèrent régulièrement leur ration. Cependant, ils ont présenté de la polyurie et de l'azotémie. Or, l'examen des organes montre dans ce cas qu'il existe, surtout dans le foie et dans les reins, des lésions indiscutables, et qui, bien que beaucoup moins marquées que dans le cas précédent, ne sont cependant pas négligeables.

Enfin, les animaux traités par des injections de solution d'hémoglobine à 7 p. 100 n'ont présenté, cliniquement, aucun symptôme pathologique; bien qu'ils aient subi des saignées aussi importantes que les précédents, ils ont réagi très rapidement aux injections d'hémoglobine et ont recouvré leur masse sanguine et leurs globules rouges dans un temps minimum. Bien qu'ils aient reçu des volumes de solutions d'hémoglobine analogues aux autres animaux, ils n'ont présenté ni troubles digestifs, ni troubles urinaires, et leur azotémie fut constamment normale. Or, l'examen histologique d'organes des animaux ayant subi des injections de solution d'hémoglobine à 7 p. 100 n'a révélé que quelques légères réactions du côté des viscères.

Le temps nous a manqué pour étudier la signification de ces réactions histologiques. Il eut fallu, notamment, sacrifier des animaux, tous soumis aux mêmes conditions d'injections, à des temps variables après ces injections, de façon à déterminer si les réactions anatomiques produites sont passagères ou non.

Dans le cas de solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100, les lésions sont si marquées que, quoique nous ayons toujours en vie un chien inoculé dans ces conditions depuis plus de trois semaines, sans gros troubles apparents, si ce n'est un peu d'azotémie persistante, il y a lieu de craindre cependant qu'elles laissent après elles de grosses déficiences.

Dans le cas des injections de solution d'hémoglobine à 14 p. 100, il est possible, par contre, que les réactions produites ne soient que transitoires, si l'on en juge par le comportement apparent normal des animaux au point de vue fonctionnel.

Cette éventualité est encore beaucoup plus vraisemblable dans le cas des injections de solution d'hémoglobine à 7 p. 100, où les réactions anatomiques sont si peu importantes.

Cependant, ce n'est que par des études ultérieures et plus prolongées qu'une conclusion définitive pourra être apportée sur ce sujet.

CHAPITRE XI

ETUDES SUR LE POUVOIR ANTIGENE DE L'HEMOGLOBINE HETEROGENE

Après les résultats favorables obtenus à la suite d'injections de solution d'oxyhémoglobine hétérogène dans le traitement des anémies aiguës expérimentales par saignée chez le chien, après la constatation qu'aucune lésion grave décelable à l'examen histologique n'avait suivi les injections à 7 p. 100, nous étions en droit de penser que cette méthode pourrait peut-être ultérieurement s'appliquer à l'homme.

Il restait cependant à rechercher si des accidents anaphylactiques ne pouvaient être provoqués par des injections répétées de ces solutions d'hémoglobine hétérogène.

La question du pouvoir antigénique de l'hémoglobine est encore en suspens. Les résultats obtenus par les différents auteurs sont contradictoires.

Bordet, Levène, Ford et Halsey, Schmidt et Benoret, Depla, nient à l'hémoglobine tout pouvoir antigénique.

Leblanc, Ide, Demees, Bradley et Sansim, Hektoen et Boor, Landsteiner, enfin, estiment au contraire que l'hémoglobine produit parfaitement l'anaphylaxie.

Tout récemment, un Belge, G. Bruynoghe, reprend la question, et, dans le bulletin n° 8, année 1933, des *Comptes rendus de la Société de biologie*, publie les résultats de ses expériences. Dans ses essais d'immunisation, les solutions pures d'hémoglobine employées « sont obtenues en dissolvant dans de l'eau distillée (4 à 5 cm³ d'eau distillée par centi-

mètre cube de globules), des globules humains, débarrassés de toute trace de sérum par 8 à 10 lavages et centrifugation successifs. Cette hémoglobine était ensuite débarrassée du stroma globulaire par centrifugation et filtration. »

Bruynoghe réalise sur des lapins à trois ou quatre jours d'intervalle cinq injections intraveineuses de 5 à 10 cm³ de solutions ainsi obtenues. « Dix jours après la dernière inoculation, dit-il, le sérum de ces lapins vaccinés a été examiné au point de vue de la présence éventuelle de précipitines spécifiques. A cet effet, à 0,5 cm³ de ces sérums, nous avons ajouté des doses décroissantes de nos solutions d'hémoglobine, depuis 1 cm³ de l'hémoglobine comme telle, jusqu'à 1 cm³ de la solution d'hémoglobine diluée à 1/1.000 et 1/2.000. Dans aucun de nos tubes, nous n'avons constaté de trouble ni immédiat, ni après un séjour de trois heures à l'étuve. Ce résultat, identique à celui enregistré précédemment par Depla dans notre laboratoire, nous rallia aux auteurs qui déniaient à l'hémoglobine tout pouvoir antigénique. »

Bruynoghe prend soin d'ajouter que « si l'on utilise, pour l'immunisation de ces animaux, des hémoglobines qui contiennent une trace de sérum correspondant, il est évident que, dans ces conditions, l'immuno-sérum ainsi obtenu peut fournir une certaine précipitation de l'hémoglobine. Il est possible, ajoute l'auteur, que, dans certains essais, les anti-hémoglobines étaient, en réalité, des antisérums ».

La pureté de l'hémoglobine a toujours été considérée par les auteurs comme une nécessité rigoureuse et indispensable pour les essais d'immunisation. La plupart répètent cinq à dix fois les lavages de globules rouges pour les débarrasser de toutes traces de sérum. D'autres auteurs, poursuivant la même idée, ont soumis l'hémoglobine à des traitements divers. Frouin, particulièrement, en 1907, rapporte « qu'en épuisant l'hémoglobine cristallisée par l'acétone et l'éther, ou par le chloroforme, on lui enlève la propriété de former des hémolysines spécifiques par injection à des animaux d'espèces différentes ». L'auteur ajoute que « cette formation

d'hémolysines spécifiques semble appartenir aux substances étrangères que l'hémoglobine entraîne lors de sa cristallisation et qui peuvent être enlevés par des dissolvants, tels que l'acétone et l'éther ou le chloroforme ».

Reprenant cette idée, nous avons soumis nos solutions d'hémoglobine à l'action de l'éther. Après laquage des globules rouges par l'eau distillée, nous avons ajouté à la solution 1/10 de son volume d'éther. Dans sa thèse de doctorat en pharmacie (Bordeaux, 1933), Demenier montre que les substances protéiques, surtout les globulines, précipitent si on les dégraisse. Il existe un complexe lipido-protéique qui devient instable si l'on supprime l'un de ses membres. Sous l'action de l'éther, dissolvant des graisses, ce complexe lipido-protéique devient instable, et les protéines sont précipitées.

Nous avons pu recueillir ainsi, après vingt minutes de centrifugation rapide (environ 2.000 tours à la minute), une solution d'hémoglobine débarrassée, pensons-nous, de toutes les protéines du sérum qui auraient pu rester adhérentes aux globules malgré des lavages successifs au sérum physiologique.

Après ce court historique, nous allons maintenant exposer nos recherches personnelles sur les tentatives de sensibilisation anaphylactiques par l'injection de solutions d'hémoglobine de cheval chez le chien et chez le lapin. Nous relaterons ensuite les résultats des contrôles sérologiques pratiqués en vue de la mise en évidence possible de précipitines dans le sérum des animaux en expériences.

1. — *Tentatives de sensibilisation anaphylactique.*

La première tentative pour la recherche du choc anaphylactique a été réalisée sur le chien n° 1.

Le 26 mars 1935, cet animal a reçu, après saignée, une injection intraveineuse de 300 cm³ de solution d'oxyhémo-

globine de cheval à 7 p. 100, soit environ 21 grammes d'hémoglobine. Le 3 mai, trente-huit jours donc après la première injection, cet animal a reçu, en injection intraveineuse, 30 cm³ de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, soit environ 2 g. 10 d'hémoglobine. Cette injection n'a été suivie d'aucun phénomène anormal. Le lendemain, le même chien reçoit sans incident, toujours en injection intraveineuse, 110 cm³ de la même solution, soit environ 7 g. 70 d'hémoglobine. Notons que l'hémoglobinurie fut proportionnellement beaucoup plus importante chez ce chien normal que chez les animaux très anémiés par une hémorragie grave.

Une série d'expériences fut alors tentée sur un lot de huit lapins. Le 8 mai, chacun de ces animaux reçut sans incident, en injection intraveineuse, 4 cm³ de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100. Le 30 mai, ces lapins reçurent par la même voie 4 cm³ de solution. Nous n'avons constaté aucun phénomène de choc à la suite de cette injection. L'état de ces animaux est demeuré excellent, et nous les avons utilisés par la suite pour de nouvelles expériences.

II. — *Contrôles sérologiques.*

Le 15 novembre, M. le Docteur Moureau voulut bien rechercher la présence possible de précipitines dans le sérum d'un groupe d'animaux soumis précédemment à des injections intraveineuses d'hémoglobine hétérogène.

Ces expériences ont porté sur :

a) Quatre lapins (deux gros et deux petits) ayant reçu pendant le cours du mois d'octobre sept injections intraveineuses de solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100, à raison d'une injection tous les trois jours; chacun des gros lapins avait ainsi reçu en tout 35 cm³ de solution, soit 2 g. 45 d'hémoglobine; chacun des lapins plus petits avait reçu en tout 25 cm³ de solution, soit 1 g. 75 d'hémoglobine;

b) Trois lapins ayant reçu chacun, pendant le mois de

mai 1935, deux injections intraveineuses de solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100;

c) Quatre chiens, qui, après saignée, ont été transfusés avec des solutions d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100;

d) Deux lapins normaux.

Ces animaux ont été saignés le 14 novembre. Aucun d'eux n'avait reçu d'injection d'hémoglobine depuis au moins dix jours.

Nous nous sommes placé exactement dans les mêmes conditions que G. Bruynoghe. A 0,5 cm³ des sérums de ces animaux furent ajoutées des doses décroissantes de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100, depuis 1 cm³ de l'hémoglobine comme telle, jusqu'à 1 cm³ de la solution diluée à 1/1.000, 1/2.000 et 1/4.000.

Dans aucun des tubes, il n'a été constaté de trouble ni immédiat, ni après un séjour de six heures à l'étuve à 37 degrés.

Nos résultats sont donc identiques à ceux qui ont été enregistrés par les auteurs déniaient à l'hémoglobine tout pouvoir antigénique.

Conclusions.

Il résulte de ce qui précède que l'hémoglobine de cheval, inoculée à des chiens et à des lapins, ne paraît pas déterminer d'anticorps ni exposer à des accidents anaphylactiques.

Si cette notion venait à être confirmée chez l'homme, on pourrait envisager avec plus de sécurité la possibilité d'employer des injections d'hémoglobine hétérogène en clinique dans le traitement des hémorragies graves.

Cependant, il restait encore à s'assurer que les solutions d'hémoglobine n'ont pas, par elles-mêmes, de pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules rouges humains. C'est ce que nous avons recherché dans les expériences suivantes :

*Les solutions d'hémoglobine de cheval
exercent-elles une action hémolytique
vis-à-vis des globules rouges de l'homme ?*

Le 19 novembre, M. le Docteur Moureau opéra de la façon suivante : Un échantillon de 10 cm³ de sang humain frais fut additionné de 1 cm³ de solution de citrate de soude à 5 p. 100.

Ce sang fut réparti en six tubes à centrifugation, à savoir :

1 tube témoin, qui contenait :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 0;

Sérum physiologique, 1 cm³;

et 5 tubes de réaction, qui contenaient :

Tube 1 :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 1 cm³;

Sérum physiologique, 0.

Tube 2 :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 1 cm³ d'une dilution à 1/2;

Sérum physiologique, 0.

Tube 3 :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 1 cm³ d'une dilution à 1/25;

Sérum physiologique, 0.

Tube 4 :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 1 cm³ d'une dilution à 1/50;

Sérum physiologique, 0.

Tube 5 :

Sang, 1 cm³;

Solution d'hémoglobine, 1 cm³ d'une dilution à 1/100;

Sérum physiologique, 0.

Le tube témoin et les cinq tubes de réaction furent agités et laissés à l'étuve à 37 degrés pendant quatre heures.

Chacun de ces six tubes fut alors additionné de 5 cm³ de sérum physiologique à 9 p. 1.000, puis agité et centrifugé pendant cinq minutes.

Dès cette première manipulation, au-dessus du culot de centrifugation du tube témoin, le liquide surnageant fut complètement clair.

Dans les tubes de réaction, il fallut trois lavages suivis de trois centrifugations, pour que le liquide surnageant au-dessus du culot d'hématies fut complètement clair.

A la fin des manipulations, le culot d'hématies a rigoureusement la même hauteur dans les tubes de réaction et dans le tube témoin. Il n'y a donc pas eu d'hémolyse.

Après un séjour de vingt-quatre heures, à la température du laboratoire, aucune modification n'est survenue.

Il semble donc permis de conclure que l'addition à du sang humain de solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100 ne provoque pas d'hémolyse pour des dilutions allant de 1 p. 1 à 1 p. 100.

CHAPITRE XII

CONSIDERATIONS GENERALES

Nous nous sommes proposé dans ce travail de rechercher si des solutions d'oxyhémoglobine hétérogène pouvaient, dans le traitement des anémies aiguës par l'hémorragie mortelle chez le chien, exercer un effet thérapeutique analogue à celui des transfusions sanguines et en tout cas supérieur à celui du sérum de Hayem. Il est entendu que, dans notre esprit, la solution d'oxyhémoglobine, pas plus que le sang transfusé, ne doivent permettre de remplacer le sang perdu, mais seulement d'assurer momentanément le transport de l'oxygène et d'apporter à l'organisme les matériaux nécessaires à la reconstruction des éléments sanguins perdus.

Pour effectuer ces recherches, nous nous sommes basé sur les indications fournies par Ch. Richet, d'après lesquelles un prélèvement de 50 grammes de sang par kilogramme d'animal détermine ordinairement la mort chez le chien, à moins qu'il ne soit porté remède à l'anémie aiguë ainsi provoquée. Mais ce chiffre est une moyenne, et les variations individuelles sont considérables. C'est ainsi que certains de nos animaux sont morts, alors que la déperdition sanguine n'atteignait que 36 grammes par kilogramme de poids total, et avant qu'on ait pu faire la moindre transfusion. D'autres, au contraire, ne paraissaient pas devoir mourir, au moins immédiatement après une saignée de 50 grammes par kilogramme. De telle sorte que, dans des recherches de cet ordre, on peut toujours se demander si les chiens ayant subi une très abondante saignée et livrés ensuite à eux-mêmes n'au-

raient pas tout de même survécu. Cependant, l'observation de l'animal permet néanmoins, par l'étude des caractères de la respiration, du pouls, de la température et par le comportement général, de se rendre compte de la précarité de son état, quoiqu'il ne soit pas possible de donner à ce sujet des formules mathématiques. De plus, nous avons suffisamment multiplié le nombre de nos expériences et réalisé assez de témoins, pour qu'il nous soit permis d'apporter ici des conclusions précises. Voici, en résumé, les constatations que nous avons faites :

1° Deux chiens ayant subi des saignées de 45 à 50 grammes de sang par kilogramme de poids total du corps sont morts peu après, avant que l'on ait eu le temps de pratiquer la moindre injection. Ces résultats sont en accord avec les données de Ch. Richet.

2° Chez trois chiens, après des saignées analogues, ou même moins importantes, nous avons pratiqué une injection de sérum physiologique à 9 p. 1.000.

L'un est mort deux heures après.

Chez un autre, qui était mourant, l'injection de sérum ne produisit aucun effet, et nous avons dû pratiquer la respiration artificielle. Pendant que l'on effectuait celle-ci, on injecta alors une solution d'oxyhémoglobine de cheval à 7 p. 100; l'animal parut ressusciter, et put même se lever, marcher et boire; mais la mort survint subitement deux heures après.

Enfin, un troisième chien, qui, après la saignée, ne parut pas aussi profondément shocké, qu'il était habituel de le constater, reçut une injection de sérum de Hayem et survécut; mais il fut extrêmement abattu pendant quarante-huit heures, restant inerte, sans se lever ni manger et buvant seulement un peu, quand on lui présentait un récipient plein d'eau. La convalescence se fit, les jours suivants, d'une façon traînante.

Ces résultats montrent que les injections de sérum de Hayem n'ont qu'un effet très limité dans le traitement des hémorragies mortelles.

3° Nous avons traité douze chiens par des injections importantes (300 à 400 cm³) de solutions d'oxyhémoglobine de cheval, après saignée mortelle. Chez deux d'entre eux, l'injection fut pratiquée, alors que l'animal était mourant; pour l'un, la mort survint en cours d'injection, et pour l'autre à la fin de celle-ci.

Deux autres animaux (n^{os} 2 et 3) ont parfaitement réagi à l'injection d'hémoglobine, mais sont morts d'hémorragies secondaires, par défaut d'hémostase au niveau des plaies faites pour réaliser la saignée. La mort survint chez l'un douze heures après l'opération, et chez l'autre deux heures après.

Réserve faite des deux chiens traités *in extremis* et chez lesquels l'injection d'hémoglobine n'a pas eu le temps de provoquer de réaction, tous nos autres animaux, traités par cette méthode, ont manifesté, souvent dès le début de l'injection, une amélioration incontestable de leur état, amélioration qui, dans certains cas, prit les allures d'une véritable résurrection. Alors que l'animal était extrêmement abattu, n'ayant plus la force d'aboyer ni de gémir, et qu'il présentait une respiration brève et superficielle, un pouls incomptable et les extrémités refroidies, très rapidement, nous avons vu dans tous ces cas les mouvements respiratoires s'amplifier et le chien recommencer à se débattre; le pouls devenait mieux frappé et moins rapide; et, dans presque toutes les expériences, l'animal mis à terre dès les dernière sutures faites a pu se lever, marcher en titubant dans la pièce et même boire.

Les effets régénérateurs ainsi observés ont été particulièrement nets quand nous avons employé des solutions d'hémoglobine à 14 p. 100; ils ont été un peu moins marqués, mais encore très importants avec des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100; ils ont été plus atténués avec des solutions à 3,5 p. 100.

D'une manière générale, il n'est pas douteux que ces solutions d'hémoglobine ont provoqué dans l'état de l'animal un changement infiniment plus satisfaisant que lorsque nous

avons pu, même avec succès, pratiquer une injection de sérum de Hayem. Le temps nous a malheureusement manqué pour comparer les effets des injections de solution d'hémoglobine à ceux des transfusions de sang total. Mais nous ne nous en croyons pas moins autorisé à conclure que l'hémoglobine hétérogène dissoute peut servir à transporter l'oxygène, et permet de parer aux accidents immédiats des anémies graves par hémorragie. Il est évident cependant qu'elles ne sauraient ramener à la vie des animaux sur le point de mourir.

4° Malheureusement, après les injections de solution d'hémoglobine, le comportement des animaux n'a pas toujours été sans troubles. Mais ici les différences ont été considérables suivant la concentration de la solution d'hémoglobine qui avait été injectée.

Les deux chiens traités avec des solutions d'hémoglobine à 3,5 p. 100 ont présenté tous les deux de l'anurie pendant quelques jours, puis de l'oligurie avec forte azotémie. Après la phase d'excitation, d'ailleurs modérée, provoquée par l'injection d'hémoglobine, ces animaux sont restés, par la suite, apathiques et anorexiques. L'un d'eux fut sacrifié, au bout de dix jours, en mauvais état. L'autre a survécu et s'est rétabli peu à peu, mais non sans présenter une azotémie persistante.

Les deux chiens traités avec la concentration à 14 p. 100 se sont comportés d'une façon normale dans les jours qui suivirent l'opération. Ils étaient alertes, mangeaient leur ration et ne paraissaient pas malades. Cependant, ils ont présenté de la polyurie et de l'azotémie, d'ailleurs transitoire, mais qui a tout de même duré une huitaine de jours.

Par contre, les chiens traités avec des solutions d'hémoglobine à 7 p. 100 n'ont manifesté aucun symptôme pathologique, et leur azotémie fut constamment normale.

Or, l'examen histologique d'organes d'animaux ayant subi des injections de solution d'hémoglobine de concentrations différentes a montré que les solutions à 3,5 p. 100 détermi-

naient des altérations profondes des divers organes, surtout du foie et du rein; que les solutions à 14 p. 100 provoquaient des réactions beaucoup moins marquées que les précédentes, mais tout de même encore appréciables; et que, par contre, les solutions à 7 p. 100 ne déterminaient que des réactions organiques très minimes.

Il résulte donc de ces faits que si les solutions d'hémoglobine, à doses suffisantes peuvent exercer une effet régénérateur très important dans les anémies aiguës par hémorragie mortelle, elles ne sont cependant pas toujours inoffensives, et que leur toxicité ou leur innocuité sont fonction de la concentration à laquelle elles sont injectées, toutes doses étant égales, par ailleurs, en ce qui concerne les solutions injectées.

Les résultats précédents montrent, en outre, que dans les limites où nous avons opéré, c'est moins la quantité totale d'hémoglobine qui intervient dans la production des accidents que la concentration sous laquelle cette hémoglobine est injectée. Dans toutes nos expériences, en effet, nous avons administré des volumes de solutions d'hémoglobine proportionnels au poids de l'animal. Or, les altérations les plus graves ont été produites dans les cas où fut utilisée la solution de concentration faible, et où, par suite, la quantité totale d'hémoglobine administrée a été la plus petite (0 g. 70 par kilogramme d'animal).

Des altérations moindres se sont produites dans les cas où fut injectée la solution de concentration la plus forte et où, par suite, la quantité d'hémoglobine administrée a été la plus importante (2 g. 20 environ par kilogramme d'animal).

Dans les cas intermédiaires où nous avons employé des concentrations moyennes et où par conséquent furent injectées des quantités d'hémoglobine intermédiaires aux précédentes, nous n'avons pas provoqué de troubles pathologiques.

Nous nous sommes demandé quelle pouvait être la cause de ces différences dans le degré de toxicité des injections de solution d'hémoglobine, et nous avons successivement invoqué, à ce point de vue, le pH, la viscosité, la pression osmotique totale et la pression colloïdale osmotique.

Le pH ne paraît pas intervenir, car il résulte des mesures encore approximatives qu'a bien voulu faire M. le Professeur Wangermez qu'il n'y a entre les pH de nos différentes solutions que des différences insignifiantes allant de 6,8 à 6,9.

La question de la viscosité ne paraît pas jouer non plus un rôle important. Nos trois solutions ont à ce point de vue, en effet, une valeur très inférieure à celle du sang normal. Or, ce n'est ni la solution qui se rapproche le plus de la viscosité du sang normal (solution à 14 p. 100 : $V = 4,2$), ni celle qui s'en éloigne le plus (solution à 3,5 p. 100 : $V = 1,2$), qui sont inoffensives, mais la solution intermédiaire (solution à 7 p. 100 : $V = 1,7$). Il est à noter, d'ailleurs, que la viscosité de celle-ci est très proche de la viscosité de la solution à 3,5 p. 100, qui se trouve être de beaucoup la plus toxique.

Un raisonnement analogue nous montre que la pression osmotique totale ne doit pas intervenir non plus pour expliquer les différences observées. En effet, toutes nos solutions sont hypertoniques, et ce n'est ni celle qui l'est le moins (solution à 3,5 p. 100 : P. O. = 8,66 At.) et qui est d'ailleurs la plus toxique, ni celle qui est plus hypertonique (solution à 14 p. 100 : P. O. = 20,76 At.), qui se sont montrées les plus inoffensives, mais la solution intermédiaire (solution à 7 p. 100 : P. O. = 10,33 At.).

Par contre, nous pensons que la différence dans la toxicité de nos solutions provient de la différence existante entre leur pression colloïdale osmotique. La solution d'hémoglobine à 7 p. 100 a, en effet, une pression colloïdale osmotique d'environ 24 millimètres de mercure analogue à celle du sérum sanguin normal, qui est d'environ 25 millimètres de mercure. La pression colloïdale osmotique des autres solutions est, au contraire, très éloignée, pour la solution à 14 p. 100 par excès, pour la solution à 3,5 p. 100 par défaut, de la pression sanguine normale. Ceci montre que l'on ne peut injecter impunément dans la circulation que des solutions d'hémoglobine à une concentration déterminée et dont les variations ne doivent pouvoir être tentées impunément que dans des limites restreintes.

5° Chez nos chiens, le taux de l'hémoglobine excrétée par les urines fut d'environ un sixième de l'hémoglobine injectée pour les solutions à 7 p. 100. Les numérations des globules du sang, répétées chaque jour, ont montré que la régénération globulaire s'est effectuée chez ces animaux d'une façon rapide et régulière et a été complète en un temps minimum de dix jours et un temps maximum de dix-sept jours. Nos animaux avaient perdu de 40 à 50 p. 100 de leurs globules rouges, du fait de la saignée. D'après Jolly, chez les chiens ayant perdu 40 p. 100 de leurs globules rouges et non traités, la régénération globulaire ne s'effectue qu'en trente-quatre jours environ. Il semble donc que l'hémoglobine injectée a servi à la réparation de la perte sanguine.

Chez les chiens traités par des injections d'hémoglobine à 3,5 p. 100, le taux de l'hémoglobine excrétée par les urines fut d'environ un septième de l'hémoglobine injectée. La régénération globulaire a été très défectueuse en raison des altérations organiques importantes qui se sont produites.

Chez les chiens traités par des injections de solution d'hémoglobine à 14 p. 100, le taux de l'hémoglobine excrétée par les urines a été dans un cas (n° 14) égale au quart de l'hémoglobine injectée, et dans un autre (n° 15) égal au septième. La régénération globulaire a subi un temps d'arrêt pendant la période d'azotémie.

Chez l'unique chien qui a survécu à la saignée, après traitement par le sérum physiologique, la régénération globulaire s'est effectuée d'une façon traînante, comme chez les chiens saignés et non traités.

6° Il y a lieu de remarquer que nous avons employé à maintes reprises dans nos expériences des solutions d'oxyhémoglobine maintenues au frigidaire à + 4° C. pendant plusieurs semaines, et que les résultats obtenus ont été les mêmes qu'avec des solutions fraîches. Des contrôles spectroscopiques ont d'ailleurs permis de vérifier que les solutions ne s'étaient pas modifiées après deux mois de séjour à température basse, et qu'elles ne contenaient que de l'oxyhémoglobine à l'exclusion de tous autres dérivés de ce pigment.

7° Toutes ces recherches semblent démontrer qu'il n'est pas absurde, à priori, d'envisager la possibilité de traiter, peut-être un jour, les anémies graves par hémorragie en clinique humaine, à l'aide d'injections de solutions d'oxyhémoglobine hétérogène fraîches ou conservées à basse température. L'important semble devoir être, à cet égard, de déterminer exactement le taux de concentration optimum à réaliser, en fonction principalement de la pression colloïdale osmotique.

Cependant, avant d'envisager une telle éventualité, il faudra poursuivre ces recherches d'une manière plus approfondie, en serrant de plus près les phénomènes, au point de vue physiologique et au point de vue histologique.

D'ores et déjà toutefois, nous nous sommes demandé si un gros écueil à l'hypothèse exprimée ci-dessus ne pourrait pas se produire du fait de la possibilité d'un pouvoir antigénique de l'hémoglobine. Bien que la question soit encore discutée, les recherches que nous avons poursuivies sur ce sujet semblent démontrer que, pour peu que l'on utilise des solutions d'hémoglobine très pures, il n'y a pas à craindre de phénomènes de sensibilisation d'une espèce à l'autre.

D'autre part, les solutions d'hémoglobine de cheval ne nous ont pas paru déterminer aucune hémolyse des globules rouges humains ni aucune agglutination de ceux-ci à quelque groupe sanguin qu'ils appartiennent.

De l'ensemble des données précédentes il semble donc résulter que l'on puisse envisager comme une hypothèse de travail ultérieur la possibilité d'utiliser des solutions d'oxyhémoglobine d'origine animale en clinique humaine dans le traitement des anémies aiguës par hémorragie. Mais cependant nous n'oublions pas que toutes nos recherches ont porté sur l'animal, et nous nous garderons bien d'induire d'une façon catégorique des résultats que nous avons enregistrés expérimentalement à ceux qui pourraient être obtenus cliniquement par la suite.

CONCLUSIONS

I. — Il nous a été impossible de préparer des solutions d'oxyhémoglobine stables et stériles à partir de poudres commerciales.

II. — Il est facile, au contraire, d'obtenir des solutions d'oxyhémoglobine stables et stériles à partir de sang frais. Ces solutions peuvent se conserver parfaitement en ampoules scellées et au frigidaire à $+ 4^{\circ}$ C. pendant au moins deux mois, durée de notre expérimentation sur ce sujet.

III. — Après des saignées d'environ 50 grammes par kilogramme d'animal, nous avons réalisé sur des chiens de 10 à 20 kilos des transfusions de 225 à 400 cm³ de solutions d'oxyhémoglobine de cheval fraîches ou conservées à basse température, et de concentrations différentes.

1° Avec des solutions d'oxyhémoglobine à 3,5 p. 100, les animaux ont survécu, mais ont présenté, dans les jours suivant l'opération, des troubles graves, et notamment de l'anurie, puis de l'oligurie avec azotémie. La régénération globulaire s'est effectuée très lentement et d'une façon irrégulière.

2° Les solutions d'oxyhémoglobine à 14 p. 100 ont provoqué immédiatement une amélioration considérable de l'état des animaux saignés. Ceux-ci ne parurent pas malades, mais dans les jours suivants ils ont présenté cependant de la polyurie et de l'azotémie. Pendant la période d'augmentation

du taux de l'urée sanguine, la régénération globulaire a subi un temps d'arrêt et le nombre des globules rouges a même parfois diminué.

3° Avec les solutions d'oxyhémioglobine à 7 p. 100, l'amélioration de l'état de l'animal saigné a été encore très importante. Les chiens se sont rapidement rétablis d'une façon complète sans présenter aucun phénomène pathologique immédiat ou éloigné.

IV. — Après des saignées analogues à celles qui furent effectuées chez les animaux précédents, nous avons réalisé sur trois chiens une injection intraveineuse de sérum physiologique à 9 p. 1.000. Deux animaux sur trois sont morts. Le troisième ne s'est rétabli qu'après une convalescence traînante; la régénération globulaire s'est effectuée très lentement.

V. — Les injections de solution d'hémoglobine à 3,5 p. 100 déterminent des lésions viscérales graves de type dégénératif, surtout marquées au niveau des reins et du foie.

Les injections de solution d'hémoglobine à 14 p. 100 entraînent des modifications viscérales moins prononcées, mais cependant encore appréciables, particulièrement au niveau des reins et du foie.

Les injections de solution d'hémoglobine à 7 p. 100 ne provoquent que des réactions viscérales peu importantes.

VI. — Les différences observées dans le comportement des animaux après des injections de solution d'hémoglobine de concentrations diverses ne peuvent pas s'expliquer par les différences dans le pH, la viscosité ou la pression osmotique totale de ces solutions. Elles paraissent être en rapport avec la pression colloïdale osmotique, les solutions inoffensives (dilution à 7 p. 100) étant celles qui ont une pression colloïdale osmotique égale à celle du sérum sanguin.

VII. — Les solutions d'hémoglobine semblent dénuées de tout pouvoir antigène.

VIII. — Mise en présence de globules rouges humains, la solution d'hémoglobine de cheval à 7 p. 100 ne provoque ni hémolyse, ni agglutination des hématies à quelque groupe sanguin qu'elles appartiennent.

VU : *Le Doyen*,
PIERRE MAURIAC.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
E. AUBERTIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 30 novembre 1933.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

- AMBERSON and others. — Oxygen consumption with Hemoglobin-Ringer. *Journ. of Cellul. and. Comp. Physiol.*, t. V, n° 3, p. 383, déc. 1934.
- The influence of pH upon the elimination of hemoglobin by the perfused frog's kidney. *Ibid.*, p. 399.
- On the use of Ringer-Locke solution containing hemoglobin as a substitute for normal blood in mammals. *Ibid.*
- AMBERSON and HÖBER. — The permeability of mammalian salivary glands for organic non-electrolytes. *Ibid.*, vol. II, p. 201, 1932.
- BAYLISS, TOOKEY, KERRIDGE and RUSSEL. — The excretion of protein by the mammalian kidney. *Journ. of Physiol.*, t. LXXVII, p. 386, 1933.
- BERT (P.). — Transfusion avec l'oxyhémoglobine. *Leçons de physiol. comparée de la resp.*, Baillière, 1870, p. 94.
- BROGNIARD et WIPPLE. — The iron content of blood free tissue and viscera. *Journ. Exp. Med.*, t. LV, p. 654, 1932.
- BROUSSY (J.). — Cellule hépatique et injection d'hémoglobine. *Arch. de la Soc. des sc. méd. biol.*, Montpellier, t. XV, p. 179, 1933-1934.
- Cortico-surrénale et injections d'hémoglobine. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. CXIII, p. 1470.
- BRULL. — Excrétion d'albumines étrangères et perméabilité du rein aux albumines propres. *Ibid.*, n° 36, p. 629, 1932.
- Influence de l'excrétion d'albumines étrangères sur le rein. *Revue belge des sc. méd.*, t. VI, n° 8, sept.-oct. 1934.
- BRUYNOGHE (G.). — L'hémoglobine. *C. R. de la Soc. de biol.*, n° 8, p. 824, 1935.
- COUVREUR et CLÉMENT. — Sur la toxicité de l'oxyhémoglobine. *Mém. de la Soc. de biol.*, p. 612, 7 juin 1919.

DELAUNAY (H.). — Les hémorragies. *Traité de physiologie de Roger et Binet*, t. VIII.

DELAUNAY (H.) et ORLY — Sur la transfusion de globules rouges hétérogènes après les hémorragies graves. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CI, p. 373, 1929.

— A la recherche d'un liquide physiologique pour le traitement des hémorragies graves. *Arch. internat. de pharmacodyn. et thérap.*, vol. XXXVIII, 1930.

DEMENIER. — Contribution à l'étude des protéines du sérum sanguin. Thèse Bordeaux, 1934.

FONTES et THIVOLLE. — Sur la fixité du rapport entre le fer et la capacité respiratoire maxima (déterminée par CO) dans le sang normal et dans le sang anémique. *C. R. de la Soc. de Biol.*, n° 38, p. 1190, 1931.

— Action de la transfusion sanguine au sang citraté. *Le Sang*, n° 5, p. 563, 1934.

FROUIN. — L'hémoglobine, épuisée par l'acétone et l'éther ou par le chloroforme, ne provoque pas d'hémolysines. *Mém. de la Soc. de biol.*, t. I, p. 798, 1911.

GRANEL et HÉDON. — Le pigment mélanique du poumon des mammifères. Recherches expérimentales sur sa formation. *Bull. d'histol. appliquée*, t. V, 1928, p. 405.

HAVILL, LIGHTY, TAYLOR and WIPPLE. — Renal thresholds for hemoglobin in dog influenced by mercury poisoning. *Journ. Exp. Med.*, t. LV, p. 617, 1932.

HAVILL, LIGHTY and WIPPLE. — Tolerance for mercury poisoning increased by frequent hemoglobin injections. *Ibid.*, p. 627, 1932.

HAYEM. — Leçons sur les modifications du sang sous l'influence des agents médicamenteux et des pratiques thérapeutiques. Paris, 1882.

HEIDELBERGER et LANDSTEINER. — On the antigenic properties of hemoglobin. *Journ. Exp. Med.*, t. XXXVIII, p. 561, 1923.

HEKTOEN and BOOR. — The specificity of hemoglobin precipitins. *Journ. Inf. Dis.*, t. XLIX, p. 29, juill. 1931.

HAESSLER (H.). — The effect of flood diuresis on hemoglobinuria. *Journ. Exp. Med.*, t. 35, p. 515, 1922.

- JULLIEN-VIÉROZ (R.). — La transfusion du sang conservé chez l'homme. Thèse Bordeaux, 1934.
- KUN, SRIBHISTHAG, HAWKINS et WIPPLE. — Biles pigments and hemoglobin interrelation in normal dogs. *Amer. Journ. of physiol.*, t. XCVI, p. 447, 1931.
- LANDSTEINER. — Over the serologische spécificiteit van het haemoglobine van verschillende diersoorten. *Verlandl. d. kon. akad. van wetensch. te Amsterdam*, t. XXIX, p. 1027, 1920-1921.
- LICHTY, HAVILL and WIPPLE. — Renal thresholds for hemoglobin in dog. *Journ. Exp. Med.*, t. LV, p. 603, 1932.
- MANWELL et WIPPLE. — Various hemoglobin and their renal thresholds in the dog. *Amer. Journ. of physiol.*, t. LXXXVIII, p. 420, 1929.
- MATSUMARA. — Ueber die toxische wirkung deis arteigenen haemoglobins. *Mitt. a. d. med. fak. d. k. univ. zu Tokyo*, t. XXII, p. 465, 1919.
- MILLER et RHOADS. — The effect of hemoglobin injections on erythropoiesis and erythrocyte size, in rabbits rendered anemic by bleeding. *Journ. Exper. med.*, t. LIX, p. 333, 1934.
- MINATOYA et DURCH. — Haemoglobininjektion verursachte haemoglobinurie. *Tohoku Journ. of Exper. Med.*, t. XXIV, vol. II, sept. 1934.
- NEWMANN et WIPPLE. — Hemoglobin injection and conservation of pigment by kidney liver and spleen. *Journ. Exp. Med.*, t. LV, p. 637, 1932.
- ORÉ. — Etudes historiques et physiologiques de la transfusion du sang, p. 164, 1868.
- ORLY. — Transfusion de globules rouges dans les hémorragies graves. Thèse Bordeaux, 1928.
- OTTENSOOER et STRAUSS. — Immunochemische untersuchungen über globin und globinderivate. *Biochem. Zeit.*, t. CXCIII, p. 426, 1928.
- POLETTINI. — Sul potere anafilattico della globina. *Boll. ist. sierot.*, Milan, t. VIII, p. 283, 1929.

- POMMERENKE, SLAVIN, KARIHER et WIPPLE. — Dog plasma protein given by vein, utilized in body metabolism of dog. Horse plasma and dog hemoglobin not similarly utilized. *Journ. Exp. med.*, vol. LXI, n° 2, p. 283, 1^{er} févr. 1933.
- PONFICK. — *Virchow's Archiv.*, vol. LXII, p. 273, 1875.
- ROCHE et DUBOULOZ. — Sur la spécificité des globines dans les hémoglobines. *C. R. de la Soc. de biol.*, n° 19, p. 317, 1933.
- ROCHE. — Caractères spectraux et spécificité des hémoglobines. *Ibid.*, n° 2, p. 172, 1933.
- SCHMIDT. — Untersuchungen über das Verhalten der Niere bei Hämoglobinausscheidung. *Deut. Arch. Klin. Med.*, t. XCI, p. 225, 1907.
- SCHMIDT et BENNETT. — Is hemoglobin antigenic? *Journ. Inf. Dis.*, vol. XXV, p. 207, 1919.
- SELLARDS et MINOT. — Injection of hemoglobin in man and its relations to blood destruction with special reference to the anemias. *Jour. Med. Res.*, vol. XXXIV, p. 469, 1916.
- SHOTSU. — Histological study on the liver and spleen after injections of the solution of hemolyzed red blood-cells, and the suspension of red-blood-cells with special reference to the behavior of the liver cell toward hemoglobin. *Jap. Journ. Exp. Med.*, vol. II, p. 107, 1933.
- TAYLOR, MANWELL, ROBSCHIT-ROBBINS and WIPPLE. — Blood regeneration in severe anemia. *Amer. Journ. Physiol.*, t. XCII, p. 408, 1930.
- WEBSTER, ENGEL, LAUG et AMBERSON. — The influence of pH upon the elimination of hemoglobin by the perfused frog's kidney. *Journ. Cell. and Comp. Physiol.*, vol. V, p. 399, 1934.
- WIPPLE and ROBSCHIT-ROBBINS. — Blood regeneration in severe anemia. *Amer. Journ. Physiol.*, t. LXXII, p. 393, 1925.
- Blood regeneration in severe anemia. *Ibid.*, t. XCII, p. 362, 1930.
- YOSHU, FUKUDA et OLIVER (Jean). — A functional and anatomical study of the excretion of hemoglobin by the kidney. *Journ. of Exp. Med.*, t. XXXVII, p. 83, 1923.
-

TABLE DES MATIERES

	Pages
AVANT-PROPOS	13
INTRODUCTION	13
CHAPITRE I. — Historique	17
— II. — Essais infructueux de préparation de solutions d'oxyhémoglobine stables et stériles à partir de poudres commerciales.....	26
— III. — Préparation de solutions d'oxyhémoglobine stables et stériles à partir de sang frais.....	32
— IV. — Propriétés physico-chimiques de nos solutions....	38
— V. — Technique opératoire	41
— VI. — Expériences réalisées avec des solutions d'oxyhémo- globine hétérogène à 7 p. 100.....	49
— VII. — Expériences de contrôle réalisées avec du sérum physiologique à 9 p. 1.000.....	73
— VIII. — Expériences réalisées avec des solutions d'oxy- hémoglobine hétérogène à 3,3 p. 100.....	83
— IX. — Expériences réalisées avec des solutions d'oxy- hémoglobine hétérogène à 14 p. 100.....	98
— X. — Les injections d'hémoglobine provoquent-elles des lésions viscérales ?	110
— XI. — Etude sur le pouvoir antigène de l'hémoglobine hétérogène	129
— XII. — Considérations générales	136
CONCLUSIONS	143
BIBLIOGRAPHIE	149

